



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI
FEDERICO II



DIPARTIMENTO DI
AGRARIA

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

Corso di dottorato in
SUSTAINABLE AGRICULTURAL AND FORESTRY SYSTEMS
AND FOOD SECURITY

XXXVIII

Valorizzazione degli scarti agro-zootecnici in bioenergia e
rimozione dei nutrienti inorganici

SSD: AGRI-04/B - Agricultural Machinery and Mechanization

Coordinatore del corso di dottorato
Prof. Albino Maggio

Dottorando
Angelo Andolfi

Supervisore
Prof. Salvatore Faugno

RINGRAZIAMENTI

Il dottorando desidera ringraziare l'Università degli Studi di Napoli "Federico II" e il Ministero dell'Università e della Ricerca (MUR).

ABSTRACT

La tesi indaga la valorizzazione degli scarti organici in chiave energetica e nutrizionale, integrando reattori anaerobici a biofilm e gestione/recupero di N e P. Dopo il quadro su pressioni ambientali e norme (UE–Italia–Campania) e sulle principali tecnologie (separazione S/L, nitrificazione–denitrificazione, strippaggio, digestione anaerobica), si propone una rassegna dei biofilm reactor (AF, UASB, AnMBBR, AnMBR, FBR) per la conversione dei rifiuti organici in Bio-CH₄/Bio-H₂. Dalla letteratura le rimozioni tipiche carbonio sono COD/VS 70–90%; condizioni ricorrenti HRT 2–10 d e OLR 5–20 kg COD m⁻³ d⁻¹; pH ottimali 5,5–6,5 (dark fermentation) e 6,8–7,5 (AD); rese ~18–86 mL H₂ g⁻¹ COD e 0,31–280 mL CH₄ g⁻¹ COD. Sperimentalmente, è stata valutata la feccia di vino come nuovo inoculo per dark fermentation di residui vegetali (37 °C, 60 d), raggiungendo rese cumulate fino a 350 mL H₂ g⁻¹ VS (zucchina; range 149–350), con 2 059–4 995 mg HAc L⁻¹ di VFA. Il digestato di DF avviato a digestione anaerobica (gg 61–147) mostra conversione dei VFA a metano ($r = 0,778$; VFA finali ≤ 131 mg HAc L⁻¹), con *Clostridium_sensu_stricto_12/Caproiciproducens* come generi dominanti in DF e *Methanosaeta* (45–98%) nel secondo stadio. Per quanto concerne il trattamento dell’azoto, in un SBR su scala laboratorio sono stati raggiunti una stabilizzazione del processo in ~30 d mediante conversione biologica (nitrificazione/denitrificazione) e TN in uscita ~390–400 mg/L (~50%). Lo strippaggio risulta efficace solo a pH alcalini, (i.e. $\geq 9,95$ –10,25) e la precipitazione di struvite consente riduzioni di P fino a ~62%.

SOMMARIO

ABSTRACT.....	I
1. INTRODUZIONE	1
1.1 L'attività zootecnica e la generazione dell'inquinamento da azoto	4
1.2 Gli effetti dell'inquinamento da azoto.....	7
1.3 Il fosforo nei reflui zootecnici	9
1.3.1 Effetti dei fosfati sulle acque superficiali.....	10
1.3.2 Origine dei fosfati	11
1.3.3 Metodi di recupero dei fosfati	11
1.4 Inquadramento normativo e conseguenze sulle realtà zootecniche.....	12
1.4.1 Leggi e regolamenti a livello Comunitario e Nazionale	12
1.4.2 Leggi ed inquadramento normativo della Regione Campania.....	17
1.5 Dati di monitoraggio dei nitrati nelle acque- Regione Campania	20
1.5.1 Acque superficiali	22
1.6 La gestione dell'azoto di origine zootecnica: tecniche di risoluzione.....	24
1.6.1 La separazione solido-liquido	26
1.7 I trattamenti biologici e ciclo dell'azoto.....	33
1.7.1 Nitrificazione.....	34
1.7.2 Denitrificazione.....	36
1.7.3 Deammonificazione (Anaerobic AMMonium OXidation).....	37
1.8 Lo stripping	39
1.9 La digestione anaerobica	42
1.10 Fitodepurazione	46
Bibliografia	47
Capitolo 2. Processi biologici per la produzione di biogas e bio-H ₂	50
2.1 Introduzione.....	50
2.2 Fermentazione anaerobica	55
2.2.1 Biofotolisi.....	61
2.2.2 Fotofermentazione.....	62
2.2.3 Elettrolisi microbica	63
2.2.4 Dark fermentation	64

2.3	Reattori a Biofilm	70
2.3.1	Anaerobic moving biofilm bed reactor (AnMBBR)	70
2.4	Conclusioni	77
2.5	Bibliografia	78
Capitolo 3. Produzione di bioidrogeno utilizzando fecce di vino come inoculo innovativo 95		
3.1	Introduzione	95
3.2	Materiali e Metodi	97
3.2.1	Residui vegetali, fecce di vino e digestato	97
3.2.2	Test del potenziale biochimico di produzione di idrogeno	97
3.2.3	Test del potenziale biochimico di produzione di metano	98
3.2.4	Metodi analitici	98
3.2.5	Calcoli e analisi statistica	99
3.3	Risultati e discussione	100
3.3.1	Caratteristiche fisico-chimiche	100
3.3.2	Effetto delle fecce di vino sulla produzione di bioidrogeno dai residui vegetali 101	
3.3.3	Cinetiche BHP: modelli di Gompertz modificato e Logistico	105
3.4	Produzione e biovalorizzazione degli acidi grassi volatili (VFA)	107
3.4.1	Accumulo di VFA e vie di produzione del bioidrogeno durante la dark fermentation.	107
3.4.2	Produzione di biometano dall'effluente ricco di VFA	109
3.5	Effetto della variazione del substrato sulla struttura della comunità microbica	114
3.5.1	Dark fermentation	114
3.5.2	Digestione anaerobica	115
3.6	Bilancio energetico e valutazione complessiva	116
3.7	Conclusioni	119
3.8	Bibliografia	119
Capitolo 4. Rimozione dei composti azotati dal digestato proveniente dal processo di digestione anaerobica		
4.1	Introduzione	127
4.2	Materiali e metodi	128
4.2.1	Descrizione dell'impianto	129
4.2.2	Riproduzione dell'SBR in scala di laboratorio	130
4.2.3	Fase di avvio dell'SBR in scala di laboratorio	131

4.2.4	Prove di rimozione dell'azoto ammoniacale.....	134
4.2.5	Valutazione dell'efficienza di nitrificazione.....	134
4.2.6	Prove di rimozione tramite strippaggio.....	135
4.2.7	Prove di rimozione del fosforo tramite precipitazione.....	135
4.2.8	Metodi analitici	136
4.3	Risultati e discussione	137
4.3.1	Processo biologico in ambiente SBR in scala reale	138
4.3.2	Efficienza del processo biologico	140
4.3.3	Processo biologico in ambiente SBR in scala di laboratorio	142
4.3.3.1	Variazione HRT e andamento nitriti, nitrati, azoto ammoniacale e azoto totale.....	146
4.3.3.2	Carico di ammonio 100 mg/l (diluizione del digestato 1:10).....	147
4.3.3.3	Carico di ammonio 200 mg/l (diluizione del digestato 1:5).....	152
4.3.3.4	Carico di ammonio 400 mg/l (diluizione digestato 1:5).....	155
4.3.3.5	Carico di ammonio 800 mg/l (diluizione del digestato 1:5).....	159
4.3.3.6	Carico di ammonio 1200 mg/l (digestato diluito 1.5)	163
4.3.3.7	Aumento del carico di ammonio: digestato non diluito	164
4.3.4	Prove di rimozione tramite strippaggio.....	166
4.3.5	Prove di rimozione fosforo tramite precipitazione della struvite...	170
4.4	Conclusioni.....	172
4.5	Bibliografia.....	173
Capitolo 5.	RISULTATI E DISCUSSIONE	178
5.1	Interconnessione fra i capitoli.....	178
5.2	Discussione critica	179
5.3	Limiti del lavoro	181
5.4	Sviluppi futuri.....	181
5.5	Conclusioni generali	183
5.6	Bibliografia	185

1. INTRODUZIONE

Negli ultimi decenni la convergenza fra crisi climatica, pressione sulle risorse e accelerazione dell'urbanizzazione ha reso evidente il limite dei modelli lineari di produzione e consumo basati sui combustibili fossili e sull'uso dissipativo dei nutrienti. Il quadro descritto nel Capitolo 1 mette a fuoco una componente cruciale di questa crisi: l'azoto reattivo in eccesso generato dalla filiera agro-zootecnica. La crescente intensificazione degli allevamenti, la diffusione di liquami ad alto carico ammoniacale e l'impiego massivo di fertilizzanti hanno prodotto sovraccarichi diffusi e puntuali che si manifestano in eutrofizzazione delle acque, acidificazione dei suoli, emissioni di NH_3 e N_2O e rischi sanitari associati ai nitrati nelle falde. Il percorso normativo europeo (Direttiva Nitrati) e il recepimento nazionale e regionale – nel caso campano con l'estensione delle ZVN e un monitoraggio sempre più capillare – hanno spinto il sistema produttivo verso pratiche più rigorose di gestione, ma hanno anche evidenziato i limiti delle sole misure “a valle”: quando il rapporto N/SAU è squilibrato o la logistica di spandimento è complessa, la conformità normativa rischia di tradursi in costi crescenti senza un reale salto di sostenibilità.

In questo contesto, la digestione anaerobica (DA) è emersa come tecnologia cardine della bioeconomia circolare perché consente di trasformare il carbonio organico in biogas e di stabilizzare i reflui, ma – come discusso sempre nel Capitolo 1 – non risolve l'azoto: nel digestato la quota ammoniacale aumenta e impone scelte gestionali e/o di trattamento dedicate (separazione solido-liquido, nitrificazione/denitrificazione convenzionale, rimozioni fisico-chimiche come strippaggio con recupero in sali di ammonio o precipitazione del fosforo in struvite). Proprio la disponibilità di calore da cogenerazione rende sinergiche alcune linee (ad esempio lo strippaggio a 60–70 °C), aprendo alla progettazione di schemi integrati che valorizzano il carbonio e chiudono il ciclo dell'azoto.

Parallelamente, il Capitolo 2 mostra come l'evoluzione dei reattori a biofilm – AF, UASB, AnMBBR, AnMBR e configurazioni a letto fluido/impaccato – abbia trasformato la DA in un processo ottimizzato: l'adesione su supporti consente ritenzione elevata della biomassa, resilienza agli shock e gestione di carichi organici superiori rispetto ai CSTR, con efficienze di rimozione del COD e rese di biogas

competitive. Ancora più marcata è la differenza quando l'obiettivo non è il metano ma il bioidrogeno (Bio-H₂): nelle condizioni di dark fermentation (DF) i reattori a biofilm riducono il dilavamento dei ceppi acidogeni, aumentano la densità cellulare e migliorano il trasferimento di massa, permettendo rese e produttività sensibilmente maggiori dei sistemi a fango sospeso. La DF è particolarmente interessante perché decarbonizza senza dipendere dalla luce, produce un vettore energetico a più alta densità specifica e apre alla integrazione in due stadi (DF e AD), nella quale gli acidi grassi volatili prodotti al primo stadio alimentano la metanogenesi al secondo, mentre l'idrogeno può essere recuperato e purificato per usi energetici avanzati.

La tesi si colloca precisamente all'intersezione fra questi tre piani: i) la gestione dell'azoto di origine zootecnica sotto vincoli ambientali stringenti, ii) l'impiego di reattori a biofilm per valorizzare matrici organiche complesse e iii) la produzione di Bio-H₂ da scarti agro-alimentari, con particolare attenzione agli scarti locali e alla loro integrazione di filiera. In questo orizzonte, uno snodo originale è la valorizzazione della feccia di vino come inoculo acidogeno e/o co-substrato per DF: residuo abbondante dell'enologia, ricco di nutrienti e microrganismi selezionati, la feccia offre una via a basso costo per avviare e stabilizzare consorzi produttori di H₂, come mostrato dai risultati più recenti che ne indicano l'efficacia a pH debolmente acido e in co-digestione con residui vegetali. La scelta è strategica per sistemi territoriali come quello campano, dove la prossimità fra filiere vitivinicola, lattiero-casearia e zootecnica crea occasioni di simbiosi industriale: i residui vitivinicoli attivano il primo stadio DF a biofilm per produrre H₂ e VFA; i VFA alimentano un secondo stadio metanigeno possibilmente a biofilm; il calore della cogenerazione a biogas abilita lo strippaggio della frazione liquida del digestato con recupero di solfato d'ammonio, mentre il fosforo può essere cristallizzato come struvite. Si delinea così una piattaforma integrata carbonio-azoto-fosforo che riduce i carichi in ambiente, genera energia rinnovabile in due vettori, e fornisce fertilizzanti secondari esportabili fuori dalle ZVN.

La tesi di dottorato è pertanto strutturata come segue:

- Capitolo 1 – Stato dell'arte: azoto, fosforo e normativa. Ciclo dell'azoto e fonti emissive in zootecnia, effetti ambientali e sanitari, quadro regolatorio UE-Italia-Campania, dati di monitoraggio, panoramica delle tecnologie di gestione e trattamento (separazione S/L, nitrificazione-denitrificazione, ANAMMOX, strippaggio, digestione anaerobica, fitodepurazione) con attenzione alle sinergie energetiche con la DA;

- Capitolo 2 – Reattori a biofilm per DA/DF e produzione di Bio-CH₄/Bio-H₂. Rassegna critica delle configurazioni (AF, UASB, AnMBBR, AnMBR, FBR), dei materiali di supporto, dei parametri operativi chiave (OLR, HRT/SRT, pH, T), delle performance su scarti alimentari e delle sfide di scale-up; messa a confronto con i CSTR e discussione dell'integrazione DF AD, e della purificazione del biogas;
- Capitolo 3 – Valorizzazione della feccia di vino per la DF a biofilm. Ipotesi e disegno sperimentale, selezione e pretrattamento dell'inoculo, regime idraulico e controllo del pH, resa e produttività di H₂, spettro dei VFA, selettività microbica e controllo dei metanigeni, e valutazione tecnico-economica preliminare
- Capitolo 4 – Trattamento e recupero dell'azoto. Modellazione di carichi e speciazione lungo la linea DA, dimensionamento di alternative (strippaggio con recupero in sale ammoniacale, precipitazione in struvite, linee nitro-denitro e deammonificazione), verifica di compatibilità in ZVN e scenari applicativi aziendali/consortili
- Capitolo 5 – Discussione integrata e conclusioni.

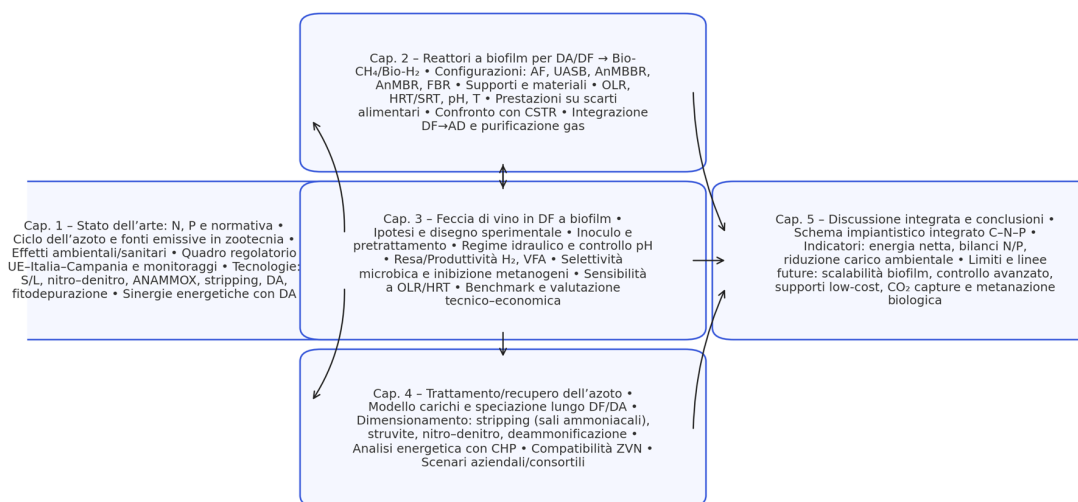


Figura 1.0 – Struttura della tesi di dottorato.

1.1 L'attività zootecnica e la generazione dell'inquinamento da azoto

L'azoto (N) è un elemento chimico indispensabile alla vita poiché è il componente principale delle macromolecole di proteine e acidi nucleici necessari per i meccanismi biologici fondamentali. Poiché sulla Terra l'azoto è diffuso in modo ubiquitario sia in forma molecolare gassosa (N_2) in atmosfera sia in forma disciolta negli oceani, è da considerarsi come il nutriente che maggiormente limita la produttività primaria nella maggior parte degli ecosistemi terrestri.

L'azoto molecolare N_2 , dotato di stabilità e inerzia chimica, non è disponibile per tutti gli organismi viventi, pertanto, affinché possa essere immesso nella catena alimentare dalle piante, è necessario che avvenga il processo di fissazione che trasforma l'azoto in specie ridotte facilmente assorbibili, quali azoto ammoniacale e organico.

Il processo di fissazione, oltre che in modo naturale, avviene anche per azione antropica e circa il 75%, ovvero circa 160 terag all'anno, dell'apporto complessivo agli ecosistemi dovuto alla produzione umana è legato alla produzione agricola, in particolare alla distribuzione sulle superfici agricole di fertilizzanti azotati, concimi organici e reflui zootecnici.

Il sistema agricolo è infatti uno dei settori produttivi più idroesigenti e, con l'uso di nutrienti, fertilizzanti e prodotti fitosanitari, determina un impatto rilevante sul territorio e sulle risorse idriche: l'alterazione del ciclo dell'azoto è da farsi risalire proprio al processo Haber-Bosch di sintesi industriale dell'ammoniaca.

Da quel momento, infatti, la produzione di forme reattive di azoto da convertire in fertilizzante è cresciuta più velocemente della popolazione mondiale.

L'ultima edizione del Rapporto sullo Stato dell'Ambiente (RSA 2001) presentata dal Ministero dell'Ambiente al Parlamento riferisce di un uso di più di 4.600.000 tonnellate di concimi contenenti N, P e K cui corrispondono circa 890.000 t d'azoto con un impiego medio intorno ai 53 kg di azoto per ettaro.

La distribuzione geografica di tali apporti di nutrienti è molto diversificata, giungendo in certe province della Valle Padana ad apporti tali da generare un surplus (azoto non utilizzato e, quindi, dilavato) di più di 200 kg/ettaro. A questi apporti si aggiungono quelli della zootecnia e degli insediamenti civili e industriali attraverso un persistente deficit di depurazione o un inadeguato funzionamento dei depuratori esistenti, nonostante i grandi investimenti realizzati nel settore.

Considerata la ridotta quantità di N presente nei raccolti, la restante parte dell'azoto immesso nei sistemi agricoli attraverso i fertilizzanti e i concimi rappresenta un surplus che finisce in ambiente, subendo processi di vario tipo: lisciviazione in acque profonde (soprattutto nel periodo autunnale a causa delle abbondanti piogge), ruscellamento in

acque superficiali, accumulo nel suolo, volatilizzazione come ammoniaca (NH_3) o come gas N_2 dai processi nitrificazione-denitrificazione.

Sebbene l'uso dei fertilizzanti abbia avuto un ruolo fondamentale, è stimato che dal 10 al 50% dell'azoto somministrato tramite fertilizzanti commerciali venga perso attraverso lisciviazione ed erosione e con l'utilizzo di reflui zootecnici le perdite sono anche maggiori (Pimentel, 1997). I liquami zootecnici, infatti, rappresentano un utile mezzo di concimazione dei terreni; se, però, il rapporto tra carico di bestiame e superficie agraria è eccedentario rispetto alla capacità delle colture di asportare i nutrienti contenuti nei liquami, si possono avere ripercussioni negative sulla qualità delle acque sotterranee e superficiali, tenendo presente inoltre l'alto carico di azoto e nutrienti contenuto nei reflui di allevamento.

Il settore zootecnico, considerando che gli allevamenti hanno assunto sempre più grandi dimensioni con concentrazioni in zone ristrette, diventa una sorgente di inquinamento di tipo puntiforme poiché, soprattutto negli allevamenti intensivi, la produzione di reflui non può essere completamente riciclata sulle colture, essendo in quantità eccessive rispetto alla superficie agricola necessaria ad assorbire le quantità di refluo prodotte.

I resti organici dagli allevamenti, quindi, acquistano sempre più carattere di rifiuto da smaltire più che di sottoprodotto da utilizzare convenientemente, non per le caratteristiche dei liquami ma per una difficoltà di collocazione.

Da questi aspetti gestionali emerge il problema della gestione dei reflui zootecnici e il legame tra questi ultimi e l'inquinamento da azoto.

Le deiezioni animali, che una volta erano utilizzate come concime, in seguito alle normative sempre più stringenti, possono essere assimilate come rifiuto, impedendo, quindi, la chiusura del cosiddetto ciclo breve dell'azoto (i mangimi prodotti dalle colture aziendali alimentano il bestiame, e i reflui di quest'ultimo fertilizzano le colture) negli stessi allevamenti; pertanto, lo spandimento di liquame e letame da pratica agronomica è diventato un problema di smaltimento di rifiuti organici.

Le problematiche derivate dai nitrati nell'acqua sono diffuse in tutta la penisola, ma sono più frequenti nelle regioni a maggiore vocazione zootecnica, quali il Bacino del Po, nella pianura Veneta, nella pianura Pontina nella Maremma Laziale, in Campania, Sicilia, Marche e Umbria; in tali aree si sono avuti casi gravi di inquinamento organico e da nitrati delle acque sia superficiali che sotterranee.

Un caso da menzionare è sicuramente quello che interessa le zone della Pianura Padana, in cui la gravità del problema e l'avanzato stato di inquinamento è confermato dai ben noti problemi di eutrofizzazione dell'Adriatico che è il corpo ricettore di tutte le acque del bacino imbrifero del Po e quindi di tutti i nutrienti da esso trasportato.

Secondo quanto riferito dal Ministero dell'Ambiente, oltre le acque costiere della Regione Emilia-Romagna, anche quelle della Regione Lazio risultano quelle con un punteggio medio di TRIX (Indice Trofico) più alto (compreso tra 5 e 6 unità di TRIX):

queste acque devono essere classificate nello stato mediocre, tipico di sistemi marini costieri caratterizzati da acque molto produttive, con situazioni che possono essere definite a rischio eutrofico.

È significativo il fatto che queste zone costiere sono influenzate dagli apporti di due tra i maggiori fiumi italiani: il Po e il Tevere, che condizionano in maniera pesante ampi tratti di costa con i loro carichi eutrofizzanti.

Infine, nello stato elevato (valori dell'Indice inferiori a 4 unità di TRIX – acque scarsamente produttive) ricadono le restanti regioni dell'Italia meridionale e insulare.

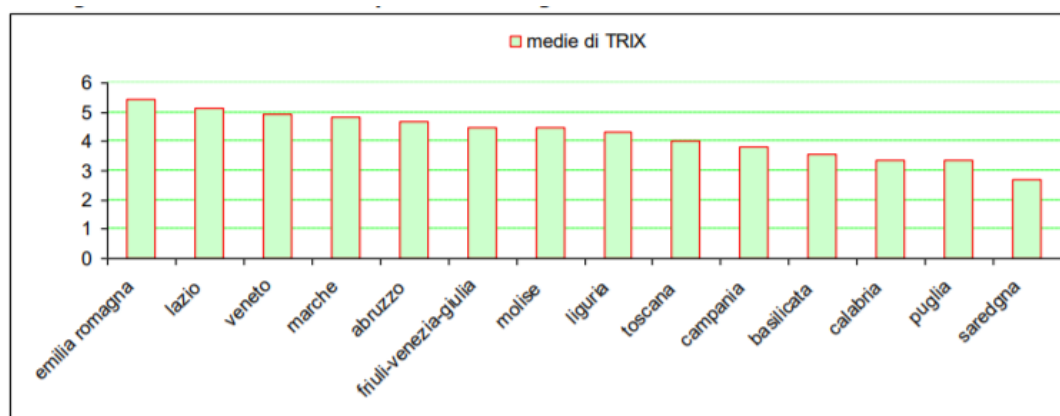


Figura 1.1 – Valori medi di TRIX per ciascuna regione costiera. Fonte: Ministero dell'Ambiente

Il problema dei residui zootecnici e quindi il loro contributo all'inquinamento da azoto nasce, in particolare, insieme agli allevamenti "senza terra" nei quali sono aumentati i reflui allo stato liquido, definiti liquami, miscela di deiezioni animali e acqua di lavaggio: il loro contenuto in sostanza secca è inferiore al 10% e non si prestano molto bene all'utilizzo per la fertirrigazione, in quanto è troppo scarso il loro apporto in elementi nutritivi.

Sono però altamente inquinanti, perché ricchi di azoto, fosforo e potassio, nonché dei farmaci somministrati agli animali.

Si capisce perciò come diventi fondamentale il sistema di smaltimento di questi liquami; tuttavia, la soluzione economicamente più vantaggiosa per lo smaltimento resta lo spandimento sui terreni agricoli, anche quando hanno un basso apporto nutritivo.

Le procedure di smaltimento dei liquami sono regolate dalla legge, ma è molto difficile verificare il rispetto delle diverse capacità di assorbimento dei terreni, perché la superficie necessaria all'azienda può essere affittata o asservita, pertanto tali difficoltà rendono possibile l'effettuazione di svuotamenti irregolari, purtroppo frequenti, anche nei corsi d'acqua e sempre in momenti in cui è improbabile subire un controllo, come nei giorni festivi o nelle ore notturne, oppure in occasione di piogge intense e durature; il tutto con danni difficilmente quantificabili per l'ecosistema dei corsi d'acqua superficiali.

In condizioni di fertilizzazione normale, ovvero quando non vi è un eccesso di sostanze nutritive, il materiale organico, nei sistemi di lavorazione naturale del terreno, rimane nel suolo e viene decomposto dai microrganismi ivi presenti e convertito in un complesso di composti organici: l'humus, essenziale in quanto controlla la ritenzione ed il movimento dell'acqua nel terreno contenendo così le strutture stesse del suolo.

I microrganismi mineralizzano le sostanze organiche con produzione di nitrati, fosfati e sali di potassio, rilasciati gradualmente, secondo le naturali richieste delle piante; il suolo assume quindi il ruolo di filtro naturale in cui avvengono le reazioni chimiche e biologiche che conducono alla degradazione della frazione organica del refluo e alla formazione di minerali assimilabili dalle colture.

Quando invece il contenuto in sostanza organica è basso (circa il 16.4% di sostanza organica rispetto al circa 30% di altre tipologie di concimi quali le torbe naturali), come nel caso tipico del trattamento con liquami, la fertirrigazione, ovvero la concimazione con i liquami, apporta facilmente minerali in eccesso (azoto, fosforo e potassio) rispetto alle richieste fisiologiche delle piante ed alle capacità di ritenzione del terreno.

Una condizione necessaria affinché i processi di degradazione e assimilazione a carico dei reflui possano compiersi è rappresentata dalla disponibilità di ossigeno nel suolo che influenza sia la velocità dei processi ossidativi sia l'efficienza nell'assorbimento dei nutrienti. I suoli con scarsa disponibilità di ossigeno sono caratterizzati da una ridotta attitudine allo spandimento di liquami, in special modo nel periodo inverno-primavera.

Altro fattore che incide sull'inquinamento da azoto è la tessitura e la granulometria dei suoli che regola la percolazione dei liquami e dell'acqua e determina l'infiltrabilità al momento dello spandimento, le caratteristiche superficiali del suolo dovrebbero garantire una velocità di infiltrazione sufficientemente rapida. In caso contrario, i liquami possono permanere per un periodo di tempo più o meno lungo sulla superficie, favorendo lo sviluppo di odori, le perdite di azoto ammoniacale per via aerea e di dilavamento da parte delle acque di ruscellamento superficiale.

Nei suoli a tessitura grossolana, quando la quantità dei reflui è eccessiva o è applicata in modo non frazionato le acque di percolazione possono inquinare la falda idrica sottostante.

1.2 Gli effetti dell'inquinamento da azoto

Analizzando gli impatti negativi dell'azoto sull'ambiente, poiché si tratta di un nutriente limitante, un suo arricchimento negli ecosistemi dovrebbe esaltarne la produttività, e in effetti questo si verifica, con conseguente incremento dell'assorbimento e immagazzinamento di carbonio (effetto utile dal punto di vista ambientale), ma il potenziale degli ecosistemi di incorporare l'azoto immesso

attraverso la produzione di materia organica non è illimitato, subentrando ,oltre certi livelli, una condizione di saturazione.

Va inoltre considerato che l'arricchimento in N può favorire specie nitrofile a scapito di altre, riducendo la biodiversità.

È stato anche teorizzato che la fertilizzazione azotata possa incrementare il rischio di sviluppare risposte allergiche negli esseri umani, attraverso l'aumento della produttività vegetale, e la diffusione di malattie veicolate dagli insetti come la malaria.

L'azoto come inquinante ha un comportamento multiforme e, poiché è un elemento molto mobile in atmosfera e nel suolo, un singolo atomo, assumendo differenti forme chimiche, può originare un inquinamento a cascata attraverso vari comparti ambientali. Ciò comporta anche il fatto che il controllo dell'inquinamento da N risulti in più rapide risposte ambientali rispetto, ad esempio, al fosforo P.

Per quanto riguarda l'inquinamento delle matrici ambientali e in particolare acqua e suolo, si è riscontrato che, per le acque superficiali le sostanze organiche degradabili presenti in numerosi scarichi, una volta in acqua, svolgono un ruolo di sostanze deossigenanti perché subiscono un processo di mineralizzazione ad opera di microrganismi con consumo di ossigeno disciolto. Questo consumo, se non compensato da un adeguato rinnovo, può dar luogo a una carenza di ossigeno e quindi a forti perturbazioni a vari livelli della comunità acquatica, anche perché in ambiente anaerobio compaiono sostanze tossiche quali l'ammoniaca, i solfuri, le ammine.

Per quanto riguarda, invece, la matrice suolo un elevato apporto di elementi fito-nutritivi determina un accumulo di sali con effetti negativi sulla struttura del suolo stesso ed un accumulo di metalli pesanti, in particolare rame e zinco contenuti in notevole quantità nei liquami suini, che possono dare effetti fitotossici o entrare in modo eccessivo e indesiderato nella catena alimentare attraverso i prodotti agrari consumati dall'uomo.

A livello del suolo i composti azotati che arrivano dall'atmosfera con l'acqua meteorica acidificata o sotto altre forme di deposizione umida o secca si sommano a quelli direttamente immessi con i fertilizzanti, determinando un eccesso di forme azotate quali lo ione ammonio (NH_4^+) e lo ione nitrato (NO_3^-), che hanno sali molto solubili e sono poco trattenute dalla matrice del terreno, risultando quindi estremamente mobili; entrambe le forme sono coinvolte in fenomeni di acidificazione dei suoli e delle acque, con complesse conseguenze ecosistemiche.

L'azoto ammoniacale causa acidificazione indirettamente, dal momento che il suo assorbimento biologico e la nitrificazione a cui dà luogo rilasciano idrogenioni (H^+) nell'ambiente; l'azoto nitrico, prodotto tra l'altro dalla rapida ossidazione microbica a cui va incontro l'azoto ammoniacale, percola velocemente nel suolo trascinando via cationi quali il calcio (Ca^{2+}) e provocando acidificazione.

Si ritiene, inoltre, per quanto riguarda le acque superficiali e sotterranee, che l'attività antropica abbia raddoppiato la quantità di N in circolazione e si possono

quindi riscontrare concentrazioni eccessive di NO_3^- , fonte di ulteriori alterazioni ambientali: la contaminazione delle acque sotto-superficiali è legata alla lisciviazione dei nitrati che dal suolo si spostano in profondità verso le falde acquifere.

Tra tali alterazioni ambientali legate all'inquinamento delle risorse idriche vi è l'eutrofizzazione, legata invece al ruscellamento superficiale o deposizione atmosferica, che provoca una crescita smodata di biomassa algale, che da un lato può associarsi a presenze algali tossiche, dall'altro, al momento della morte in massa delle alghe e del loro accumulo nei sedimenti, determina un'elevata domanda di ossigeno per la loro degradazione a discapito delle altre specie viventi presenti nello stesso corso d'acqua.

L'eutrofizzazione ha quindi pesanti effetti ambientali, comportando perdita di diversità sia tra gli organismi e degradazione di habitat quali le praterie sottomarine: attraverso il declino delle popolazioni di pesci di valore commerciale, l'impossibilità di utilizzare le acque degradate per la balneazione, la navigazione sportiva e altri usi di tipo ricreativo, si hanno conseguenze anche di tipo economico e sociale.

Oltre alle matrici acque e suolo, anche la matrice aria risulta contaminata a causa della formazione di particolato fine per volatilizzazione dell'ammoniaca (NH_3) e a causa dell'emissione di protossido e ossidi di azoto NO_x che concorrono all'effetto serra.

Infine, occorre ricordare che, al di là della grande attenzione posta negli ultimi anni sui problemi causati dall'eccesso di azoto, anche altri nutrienti presenti nei reflui zootecnici possono avere effetti ambientali deleteri, e che un rapporto tra i vari nutrienti squilibrato rispetto al fabbisogno delle colture causa la dispersione in ambiente di quelli sottoutilizzati.

Dal punto di vista sanitario è stato analizzato, infatti, che un'elevata concentrazione di nitrati può costituire un rischio per i lattanti, in quanto i nitrati, se ingeriti, a contatto con la flora batterica si trasformano in nitriti, alterando l'emoglobina, ricevendo meno ossigeno. Gli effetti negativi dei nitrati, tuttavia, non colpiscono solo i bambini, infatti, è in discussione il ruolo di queste sostanze nell'insorgenza di alcuni tipi di tumore: infatti i nitrati possono ridursi in nitriti e, unendosi alle ammine a livello dello stomaco, possono formare nitrosammine, riconosciute come sostanze cancerogene.

L'insieme delle problematiche riscontrabili sia a livello sanitario che ambientale ha portato all'emanazione di normative di controllo stringenti, in quanto una bassa efficienza nell'uso dell'azoto da parte delle colture non costituisce dunque unicamente un problema agronomico ed economico per l'azienda agricola, ma è una rilevante questione ambientale.

1.3 Il fosforo nei reflui zootecnici

I reflui zootecnici adoperati, oltre all'azoto, contengono anche composti del che sono in genere trattenuti dal suolo.

Il fosfato monocalcico è solubile e viene trasformato in forme meno solubili o adsorbito sulle particelle del suolo o può formare complessi con la materia organica. Rilevante è l'interazione con le argille che possono trattenere i sali del fosforo impedendone il rilascio nella soluzione circolante. Fosfati meno solubili si solubilizzano lentamente e soltanto nei suoli acidi ($\text{pH} < 5$). Il fosforo organico si rende invece disponibile attraverso la mineralizzazione della sostanza organica.

Nei liquami zootecnici il fosforo è principalmente sotto forma di composti inorganici solubili. La quota organica (compresa fra il 15 e il 25% del totale) è parzialmente trasformata in ortofosfato che non viene trasportato per lisciviazione nel sottosuolo, eccetto che nei suoli sabbiosi e con somministrazioni elevate. Ciò che maggiormente conta ai fini della protezione ambientale è dunque il fosforo inorganico (ortofosfato). Il suo comportamento nel suolo è tuttora oggetto di studio; tuttavia, si può semplificare la dinamica dicendo che l'ortofosfato è soggetto a un veloce adsorbimento (processo reversibile) e a una molto più lenta di fissazione o retrogradazione (processo irreversibile). Si può ritenere che il danno potenziale per l'ambiente esista quando:

- il fosforo è stato applicato al terreno in modo che l'accumulo raggiunto è causa di lisciviazione nei primi strati delle falde acquifere superficiali;
- i suoli vengono erosi e i sedimenti arricchiti di fosforo si depositano sul fondo dei corpi idrici superficiali; il contenuto di fosforo nei sedimenti dipenderà anche dalla datazione del suolo;
- si verifica ruscellamento superficiale di liquame o direttamente dalle strutture di allevamento o di stoccaggio dei reflui (inquinamento puntiforme) oppure dagli appezzamenti in seguito allo spandimento (inquinamento diffuso).

1.3.1 Effetti dei fosfati sulle acque superficiali

I composti del fosforo sono fitonutrienti e causano la crescita di alghe nelle acque superficiali. A seconda della concentrazione dei fosfati presenti nelle acque può verificarsi una eutrofizzazione o lo sbilanciamento della qualità delle acque superficiali. Un grammo di fosforo fosfato ($\text{PO}_4\text{-P}$) consente la crescita di 100 g di alghe. Una volta morte queste alghe, i processi di decomposizione richiedono un fabbisogno di ossigeno di circa 150 g. Le concentrazioni critiche per una eutrofizzazione iniziale, nei corsi d'acqua, si attestano intorno allo 0,1-0,2 mg/l $\text{PO}_4\text{-P}$, mentre nelle acque stagnanti addirittura intorno allo 0,005-0,01 mg/l $\text{PO}_4\text{-P}$. A causa del rischio potenziale per le acque superficiali, la direttiva UE 91/271/CEE fissa i valori limite per lo scarico di composti del fosforo in un corpo idrico ricettore. In base alle dimensioni dell'impianto di depurazione, il limite è stabilito a 2 mg/l P_{tot} (10.000 – 100.000 a.e.) o a 1 mg/l P_{tot} (> 100.000 a.e.).

1.3.2 Origine dei fosfati

I composti del fosforo arrivano nelle acque reflue o direttamente nelle acque superficiali attraverso: dilavamenti di fertilizzanti, escrementi umani e animali, detersivi e prodotti detergenti. Il carico totale di PO_4 si compone di ortofosfato + polifosfato + composti organici del fosforo; di norma, la percentuale maggiore è costituita dall'ortofosfato PO_4 . I fosfati sono presenti nell'acqua in forma disciolta, colloidale o solida. Pertanto, prima di procedere all'analisi, è importante decidere quale parte dei composti del fosforo deve essere analizzata: per determinare unicamente gli ortofosfati (ad esempio per il controllo della precipitazione P) il campione deve essere soltanto filtrato prima di essere analizzato. Se invece deve essere misurata la concentrazione totale di PO_4 (ad esempio per il controllo dei valori limite) è necessaria una omogeneizzazione iniziale del campione con digestione finale (decomposizione).

1.3.3 Metodi di recupero dei fosfati

Un modo di recuperare fosforo da acque reflue e destinarlo al possibile riuso agricolo è quello di precipitarlo come struvite. Il processo è stato usato per abbattere l'azoto ammoniacale in particolare in reflui che ne contenessero concentrazioni elevate, per esempio il percolato di discarica. Il processo chimico produce un composto cristallino, costituito da ioni Magnesio, Ammonio e Fosfato (da qui l'acronimo MAP), che può essere utilizzato come fertilizzante fosfatico e/o azotato a lento rilascio. Questo trattamento chimico fisico ha mostrato però una maggior efficacia in termini di abbattimento del fosforo rispetto all'azoto (per il fosforo i rendimenti di abbattimento sono dell'80-90% per l'azoto spesso le condizioni operative reali raggiungono valori di abbattimento del 50-60%).

La struvite è un fosfato esaidrato di ammonio e fosforo. ($NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$). Magnesio, ammonio e fosforo sono presenti nella composizione della struvite in eguali concentrazioni molari. La cristallizzazione avviene secondo la seguente reazione:



Negli impianti di depurazione biologica la struvite spesso cristallizza spontaneamente formando incrostazioni in aeratori e scambiatori di calore. La scarsa solubilità dei cristalli di questo prodotto è la caratteristica che lo rende un prodotto ad azione prolungata nel tempo se utilizzato come concime.

Nel settore del trattamento acque si stanno effettuando ricerche volte ad ottimizzare la precipitazione della struvite dal surnatante proveniente dalla sezione di digestione anaerobica, evitando così l'accumulo di fosforo nella sezione di sedimentazione primaria dove vengono di solito convogliati i flussi di acque di processo provenienti dal trattamento dei fanghi.

La tecnologia di recupero di azoto e fosforo come struvite esiste dagli anni 80 ma ha avuto scarsa diffusione.

L'aumento del prezzo del fosforo sul mercato e l'orientamento generale volto ad ottimizzare l'efficienza energetica ed il riutilizzo dei nutrienti, hanno reso possibile e commercialmente conveniente la costruzione di questo tipo di impianti.

L'unione europea ha dato il via ad un altro progetto di recupero denominato PHOSFARM che prevede di recuperare da residui quali letame o digestato (residuo del processo di digestione anaerobica) il fosforo sia organico che inorganico. La prima parte del processo utilizza l'enzima fosfatasi per digerire le molecole organiche dove i composti organici del fosforo sono presenti principalmente nella fase solida, o in quella particolata nel caso di acque reflue. La parte successiva del processo prevede la precipitazione del fosforo inorganico dalle frazioni liquide del digestato o dai reflui provenienti dalle acque di lavaggio delle stalle. La fase successiva prevede la miscelazione dei due tipi di ammendanti per ottenere miscele adatte a diversi tipi di piante o a particolari esigenze culturali.

1.4 Inquadramento normativo e conseguenze sulle realtà zootecniche

In questo paragrafo viene presentato il quadro normativo di riferimento in materia di gestione dei reflui zootecnici e di tutela delle acque, con particolare attenzione all'evoluzione della legislazione europea e nazionale e alle ricadute operative per le aziende agricole e zootecniche.

1.4.1 Leggi e regolamenti a livello Comunitario e Nazionale

Le politiche europee dei decenni precedenti hanno sempre più favorito l'intensificazione produttiva che è alla base dei processi di degrado ambientale, tuttavia, già a partire dagli anni '80, l'aumento della concentrazione di nitrati nelle acque di 1 mg/l all'anno destò preoccupazione, portando a stabilire un valore guida di 25 mg/l e un valore soglia di 50 mg/l come concentrazione massima ammissibile nelle acque destinate al consumo umano.

L'origine di queste norme è stato l'inquinamento delle acque, soprattutto in Pianura Padana, ma anche in tutta Europa: ciò ha spinto inizialmente verso i sistemi di depurazione e quindi negli anni '80 verso la logica dei Piani di spandimento.

In tale contesto nel 1991 fu emanata la direttiva conosciuta come Direttiva nitrati (Dir. 91/676/CEE), che rappresenta il primo strumento legislativo volto a proteggere le acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole, che in questo ambito rappresenta ancora oggi il riferimento normativo fondamentale nella legislazione europea e italiana. Anche questa Direttiva partiva dall'inquinamento delle acque, dai problemi di eutrofizzazione, dall'accumulo dei nitrati in falda e l'attenzione era sull'acqua che mobilita i nutrienti e li trasferisce nelle falde e nei recettori.

I contenuti fondamentali della direttiva sono:

- la riduzione dello scarico effettuato direttamente o indirettamente nell'ambiente idrico di composti azotati di origine agricola;
- la riduzione dell'inquinamento idrico risultante dallo spargimento e dallo scarico di deiezioni del bestiame o dall'uso eccessivo di fertilizzanti;
- la prevenzione di qualsiasi ulteriore inquinamento di questo tipo
- l'individuazione di Zone Vulnerabili da Nitrati di origine agricola (ZVN), nelle quali è introdotto il divieto di spargimento dei reflui degli allevamenti oltre un limite massimo annuo di 250 kg di azoto per ettaro;
- la regolamentazione dell'utilizzazione agronomica dei reflui zootecnici, con definizione dei cosiddetti Programmi d'Azione: tali programmi stabiliscono le modalità con cui possono essere effettuati gli spandimenti.

La Direttiva stabilisce che gli Stati Membri elaborino uno o più codici di buona pratica agricola (CBPA), quali i Piani di concimazione, riguardanti la tutela della salute umana, delle risorse viventi e degli ecosistemi acquatici, nonché della salvaguardia di altri usi legittimi dell'acqua, prendendo in considerazione esclusivamente i problemi dell'azoto, contribuendo a realizzare una maggior protezione da nitrati riducendo l'impatto ambientale dell'attività agricole.

Il monitoraggio della concentrazione di nitrati nelle acque deve essere effettuato al fine di individuare le acque inquinate e di designare le aree vulnerabili.

I criteri per l'identificazione delle acque inquinate sono:

- contenuto di nitrati superiore a 50 mg/l nelle acque dolci superficiali, in particolare quelle destinate alla produzione di acqua potabile o possibilità di superamento di tale limite se non si adottino programmi d'azione;
- contenuto di nitrati superiore a 50 mg/l nelle acque sotterranee o possibilità di superamento di tale limite se non si adottino programmi d'azione;
- eutrofizzazione a carico di laghi naturali di acqua dolce di altre acque dolci, degli estuari, delle acque costiere e marine o possibilità di eutrofizzazione se non si intervenga.

Ai fini della designazione delle zone vulnerabili, gli Stati Membri sono tenuti ad eseguire il monitoraggio delle acque superficiali e sotterranee per almeno un anno.

La direttiva imponeva agli Stati membri anche una serie di altri impegni, fissandone precise scadenze temporali.

Entro 2 anni dall'emanazione ogni Stato avrebbe dovuto individuare le zone vulnerabili ai nitrati (ZVN), ossia le zone che scaricano le acque in corpi idrici superficiali o profondi inquinati o suscettibili di essere inquinati da nitrati di origine agricola, oppure in corpi idrici superficiali e costieri eutrofici o suscettibili di diventarlo; in queste zone la dose massima di azoto di origine zootecnica distribuibile sui terreni agricoli è stata rivista ed è stata fissata a 170 kg per ettaro all'anno, mentre nelle altre zone, denominate ordinarie, la dose massima è di 340 kg; venivano inoltre date indicazioni sul modo di determinare il livello di inquinamento effettivo o potenziale delle acque superficiali e profonde.

Entro 2 anni avrebbero dovuto essere stesi i Codici di Buona Pratica Agricola e, entro 2 anni dalla prima individuazione delle aree vulnerabili, avrebbero dovuto essere emanati i Programmi di Azione da attuare (entro 4 anni) in tali aree. Infine, avrebbero dovuto essere elaborati dei programmi di controllo per verificare gli effetti conseguiti dai Programmi di Azione.

Soltanto nel 1999 fu promulgato il Codice di Buona Pratica Agricola (con D.M. 19/04/1999), e fu recepita la direttiva con il D.lgs. 11/05/99, n. 152 ("Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della Direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque reflue urbane e della Direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole"), poi corretto e integrato dal D.lgs. 18/08/2000, n. 258, superato dal D.lgs. 152/06.

La normativa attualmente vigente, quindi, tiene conto dei fattori di rischio ambientale insieme alla necessità di valorizzare fin dove è possibile il contenuto fertilizzante dei reflui zootecnici, mediante due approcci distinti in relazione alle modalità di spandimento:

- scarico sul suolo agricolo mediante spandimento agronomico: viene individuato un limite di peso vivo per ettaro di terreno agricolo che si ritiene compatibile con la capacità di assimilazione delle colture e con la trasformazione della sostanza nel suolo in humus e nutrienti minerali, senza pregiudizio per i corpi idrici superficiali e profondi. Tale valore è suscettibile di riduzione o annullamento sulla base delle competenze delle Regioni, in funzione delle caratteristiche del substrato geo pedologico;
- scarico in pubblica fognatura o in acque superficiali: il criterio assunto dal legislatore per gli scarichi, siano essi insediamenti civili, industriali o zootecnici, è quello di definire la concentrazione limite di inquinanti nel refluo

da scaricare nella fognatura o nel corso d'acqua superficiale, tramite apposite tabelle allegate alle leggi nazionali e regionali.

L'applicazione della Direttiva nitrati in Italia è stata demandata alle Regioni attraverso una legislazione territoriale che si basa su dei punti fermi fissati, che rimangono alla base dell'attuale disciplina.

Alle Regioni, in accordo con le Autorità di Bacino, è stata demandata anche la verifica della vulnerabilità delle diverse zone, attraverso il monitoraggio dei corpi idrici sotterranei e superficiali, lo studio delle caratteristiche dei suoli e della loro capacità intrinseca di protezione degli acquiferi, l'analisi delle zone a elevato carico zootecnico; mentre a una concertazione interministeriale, d'intesa con la Conferenza Stato – Regioni, è stato affidato il compito di predisporre criteri e norme tecniche generali per l'elaborazione dei Programmi di Azione.

Da parte dell'Unione Europea, tuttavia, sono state avanzate negli anni le richieste affinché venissero colmate le lacune della disciplina nazionale (nel 2004 Raccomandazione all'Italia di ampliare le ZVN, nel 2006 costituzione in mora dell'Italia per ridotta presenza di ZVN e inadeguatezza dei programmi di contenimento dell'azoto).

Sono stati inoltre fissati nuovi valori di N al campo proveniente dalle diverse specie allevate, definiti dal progetto interregionale "Bilancio dell'azoto negli allevamenti" (l. 23/12/1999, n. 499), giacché quelli utilizzati precedentemente a livello regionale non corrispondevano a quelli degli altri Paesi dell'Unione Europea, considerando valori di escrezione bassi e perdite per volatilizzazione elevate; i nuovi valori prevedono solo una detrazione del 28% dell'azoto escreto, come frazione volatile persa durante le prime fasi di gestione degli effluenti, e non tengono conto della diversa efficienza di utilizzazione dell'azoto da parte delle colture nelle diverse fasi stagionali.

È comunque data la possibilità di calcolare valori diversi, utilizzando metodi rigorosi, nel caso in cui si applichino tecniche mirate alla riduzione dell'azoto contenuto nei reflui; si prevede del resto che, in contesti territoriali vulnerabili, le Regioni rendano obbligatorie, laddove tecnicamente possibile, modalità di gestione con tale finalità, indirizzando verso soluzioni gestionali di tipo consortile. L'utilizzazione agronomica dei reflui di allevamento è poi soggetta ad alcuni adempimenti burocratici: per le aziende soggette alla normativa IPPC (Integrated Pollution Prevention and Control) è necessario chiedere un'autorizzazione alla gestione agronomica; per le altre è sufficiente una comunicazione all'autorità (ne sono esonerate le aziende molto piccole) integrata da una documentazione che, se l'azienda ricade in ZVN, consiste nel Piano di Utilizzazione Agronomica (PUA), ossia un piano di concimazione di dettaglio basato sul bilancio dell'azoto, con indicazioni sul tipo di fertilizzanti o ammendanti impiegati, loro quantità, tempi e modalità di somministrazione. La direttiva ha dimostrato la sua efficacia: nel periodo 2004-2007,

analogamente al triennio 2012-2015, le concentrazioni di nitrati nelle acque superficiali sono rimaste stabili o sono diminuite del 70% nei siti sottoposti a monitoraggio rispetto al periodo precedente (2000-2003), ovvero il 15% delle stazioni di monitoraggio dei 27 Stati membri dell'UE ha registrato livelli di concentrazione superiori al valore soglia mentre il 66% di esse ha evidenziato livelli inferiori a 25mg/l.

In Italia, per quanto riguarda le acque sotterranee, si superano i valori soglia nel 10% delle stazioni monitorate.

In definitiva, dall'applicazione delle direttive europee e della legislazione regionale, risulta per le aziende zootecniche un aumento dei costi di produzione e, inoltre, risulta difficile agire sul denominatore del rapporto N/SAU (Superficie Agricola Utilizzata) incrementando i terreni a disposizione, a meno di trattare i liquami in modo da renderli facilmente trasportabili a distanza e commercializzabili.

L'alternativa più facilmente percorribile è la possibilità di ridurre il numeratore, ossia la quantità di N prodotto. La strada più ovvia per farlo è la riduzione del numero dei capi allevati, che però comporterebbe il rischio di chiusura per molte attività; in alternativa occorre introdurre migliorie tecniche che riducano la quantità di azoto prodotto a parità di consistenza del bestiame.

L'utilizzazione agronomica degli effluenti di allevamento è finalizzata al recupero delle sostanze nutritive ed ammendanti contenute negli stessi effluenti. Essa è consentita purché siano garantiti:

- la tutela dei corpi idrici e, per gli stessi, il non pregiudizio del raggiungimento degli obiettivi di qualità di cui agli art. 76 e successivi del D.Lgs. n. 152/2006
- la produzione, da parte degli effluenti, di un effetto concimante e/o ammendante sul suolo e l'adeguatezza della quantità di azoto efficiente applicata e dei tempi di distribuzione ai fabbisogni delle colture
- il rispetto delle norme igienico sanitarie, di tutela ambientale e urbanistiche

. L'utilizzo dei liquami, ai sensi dell'art. 5 del DM del 7 aprile 2006 è vietato:

- sui terreni con pendenza media superiore al 10%, con riferimento ad un'area aziendale omogenea. Detta pendenza può essere aumentata fino al 20% a condizione che tali terreni presentino adeguate sistemazioni idraulico agrarie atte ad evitare fenomeni di ruscellamento ed erosione
- entro 10 metri dalle sponde dei corsi d'acqua
- entro 10 metri di distanza dall'arenile per le acque marino costiere e lacustri
- entro 10 metri dalle strade ed entro 100 metri dagli immobili adibiti a civile abitazione, a meno che i liquami, al fine di evitare le emissioni sgradevoli, non vengano interrati contestualmente allo spandimento
- nei casi in cui i liquami possano venire a diretto contatto con i prodotti destinati al consumo umano

- in orticoltura, a coltura presente, nonché su colture da frutto a meno che il sistema di irrigazione non consenta di salvaguardare integralmente la parte aerea delle piante
- dopo l'impianto della coltura nelle aree adibite a parchi o giardini pubblici, o campi da gioco, utilizzate per la ricreazione o destinate in genere ad uso pubblico
- su colture foraggere nelle tre settimane precedenti lo sfalcio del foraggio o il pascolamento. Inoltre, è vietato l'utilizzo dei liquami dal 1° dicembre fino alla fine del mese di febbraio dell'anno successivo.

Alla produzione complessiva del liquame da stoccare deve essere sommato il volume delle acque meteoriche, che confluiscono direttamente nei contenitori scoperti. È fatto divieto di convogliare nei contenitori per lo stoccaggio le acque bianche provenienti da tetti e tettoie nonché le acque di prima pioggia provenienti da aree non connesse all'allevamento. Le dimensioni dei contenitori non dotati di copertura devono tenere conto delle precipitazioni medie e di un franco minimo di sicurezza di almeno 20 centimetri. La costruzione di nuovi contenitori per lo stoccaggio, per le aziende che producono un quantitativo di oltre 6.000 kg di azoto/anno deve prevedere il frazionamento del volume di stoccaggio in almeno due contenitori. Il prelievo a fini agronomici deve avvenire dal bacino contenente liquame stoccato da più tempo.

1.4.2 Leggi ed inquadramento normativo della Regione Campania

La Campania è una regione caratterizzata da una forte specializzazione per la zootecnia: gli allevamenti, infatti, sono presenti su gran parte del territorio regionale. L'importanza della zootecnia campana si può misurare attraverso alcune statistiche riguardanti sia le aziende sia la produzione.

Le aziende che presentano nel loro portafoglio produttivo attività zootecniche, secondo i dati aggiornati dell'Anagrafe Nazionale Zootecnica, sono circa 68 mila e rappresentano quasi 1/3 del totale aziende agricole rilevate dal Censimento Istat del 2010.

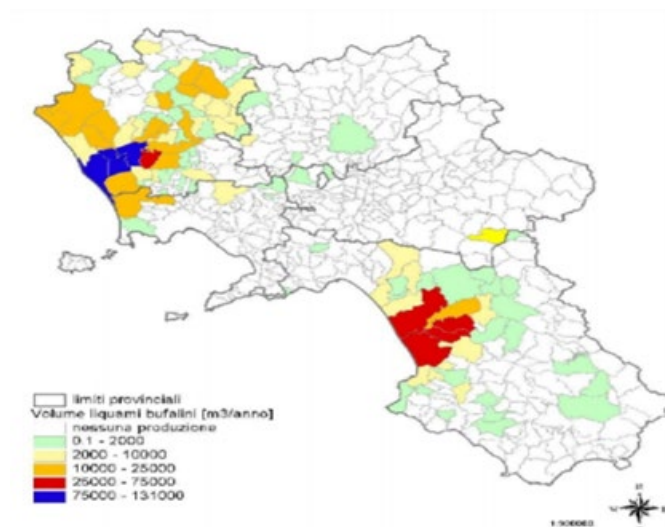


Figura 1.2 – Stima del volume di liquami zootecnici provenienti da allevamenti bufalini. Fonte: Regione Campania.

La stessa proporzione si riscontra a livello nazionale, con la differenza che la dimensione degli allevamenti è tendenzialmente minore, con poche eccezioni di aziende medio-grandi di tipo intensivo o di allevamenti “senza terra”, localizzate soprattutto in provincia di Salerno (32%) e Caserta (66%) e specializzate nella produzione di latte di bufala; queste aziende sono spesso integrate verticalmente a valle con propri caseifici per l’offerta di “mozzarella di bufala campana”.

La filiera zootecnica in Campania, quindi, si è caratterizzata tra il 2000 e il 2010 (periodo del 5° e 6° Censimento Generale dell’Agricoltura, ISTAT) per una notevole riduzione nel numero delle aziende (-62,4%) e una sostanziale tenuta del patrimonio zootecnico misurato in Unità Bovine Adulte (UBA). La tendenza ha riguardato tutti i comparti a eccezione del bufalino, che ha registrato un incremento sia di aziende allevatrici (+8,6%) sia di capi allevati (+100%) rispetto al 2000. L’allevamento bovino permane l’attività zootecnica più diffusa ed è praticato da 9.333 aziende (pari al 65% del totale aziende zootecniche).

Una conseguenza diretta dell’aumento consistente del numero di capi allevati per ettaro di azienda è un aumento dell’inquinamento da fonti diffuse (Non Point Pollution Source, NPS) legato al contenuto di nutrienti (specialmente azoto) nelle aree di produzione. L’attuale gestione integrata dei reflui zootecnici, mirata alla prevenzione dell’inquinamento da fonti diffuse, comporta l’utilizzazione agronomica in campo.

Uno studio sui reflui zootecnici in regione Campania (Infascelli et al., 2009) esamina la distribuzione dei capi sul territorio della provincia di Caserta e la concentrazione attesa di nitrati nelle falde. Il confronto con i dati rilevati in oltre cento pozzi, dimostra che non v’è correlazione tra l’inquinamento misurato e quello atteso in base alla distribuzione dei capi. Da ciò emergono due considerazioni: la prima è che il contenuto di azoto nei reflui bufalini potrebbe non essere quello atteso e previsto

dalle normative. La seconda è che, a causa degli elevati costi di gestione o di difficoltà operative legate ai cicli colturali, la pratica dello spandimento in campo sia poco perseguita dagli allevatori, contravvenendo alle vigenti normative. Approfondendo la prima possibilità, si è rilevato che, nel caso degli effluenti bufalini, il contenuto di azoto è circa il 50% in meno di quanto riportato in letteratura per gli effluenti bovini. In conseguenza a questi studi, da cui è scaturita una nuova disciplina regionale di gestione, sono stati rivalutati anche i costi per lo spandimento. L'argomento, già discusso in letteratura per le altre specie (Provolo, 2000) è stato approfondito per la bufala mediterranea (Faugno et al., 2012) e si è rilevato che i costi sono molto più elevati e se paragonati ai benefici agronomici ottenibili con una concimazione chimica, divengono talvolta antieconomici. Tutto ciò ha condotto alla convinzione che per valutare quale sia la migliore strategia di gestione, è necessario conoscere l'andamento nel tempo, dell'evaporazione dei reflui depositi al suolo. Riducendo, tuttavia, i volumi da dover gestire, è possibile ridurre sia il problema economico sia gli impatti ambientali.

Per quanto riguarda la pianificazione regionale la prima delimitazione delle zone vulnerabili è stata derivata dalla Carta della capacità di attenuazione dei suoli: sulla base della cartografia pedologica è stato attribuito, dapprima alle unità tipologiche di suolo e, successivamente, alle unità cartografiche, una classe di capacità di attenuazione secondo i parametri prescelti, ovvero la permeabilità e la capacità assimilativa. I suoli con elevata capacità di attenuazione presentano un basso grado di vulnerabilità nei confronti di processi percolativi in cui sono presenti i nitrati, per contro suoli con bassa capacità di attenuazione non sono in grado di contrastare i processi percolativi e, quindi, risultano con un elevato grado di vulnerabilità ai nitrati.

Poiché i suoli rappresentano il primo strato ambientale posto a difesa delle falde, l'individuazione di aree dove insistono suoli vulnerabili ai processi percolativi fornisce una delimitazione iniziale di "zona vulnerabile". Le "zone vulnerabili" così individuate sono state confermate o ampliate in funzione di dati informativi di maggiore dettaglio messi a disposizione dalle Autorità di Bacino interessate e dall'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale della Campania (ARPAC).

La delimitazione delle Zone Vulnerabili da Nitrati di origine agricola è stata approvata in Regione Campania con deliberazione di Giunta Regionale n. 700 del 18 febbraio del 2003. Con deliberazione di Giunta Regionale n. 1220 del 6 luglio 2007 è stato adottato il Piano di Tutela delle Acque (PTA) della Regione Campania, che ha anche provveduto a delimitare le zone vulnerabili da nitrati di origine agricola. Nel 2013, (D.G.R. n. 56 del 7 marzo 2013) è stata confermata la delimitazione delle zone vulnerabili da nitrati di origine agricola della Campania di cui alla DGR n.700/2003. In tale contesto, ai fini della definizione delle aree vulnerabili, sono stati considerati i programmi di controllo per la verifica della concentrazione dei nitrati nelle acque dolci

e lo stato trofico delle acque dolci superficiali, delle acque di transizione e delle acque marino costiere, per il periodo di un anno.

Con una circolare della Direzione generale per le Politiche agricole del 19 febbraio 2019, la Campania ha confermato la rielaborazione delle zone vulnerabili ai nitrati di origine agricola individuate nel 2017. La nuova designazione delle ZVNOA si realizza “assemblando” i corpi idrici sotterranei che, a seguito dei dati di monitoraggio ARPAC, con evidenza di vulnerabilità, sia nei valori che nei trend registrati nel tempo e le aree con pendenza inferiore al 20% ricadenti nei sottobacini delimitati dal Distretto idrografico dell'Appennino Meridionale che presentano punti di monitoraggio con acque eutrofiche, delimitando le aree a monte fino al primo punto di chiusura non eutrofico lungo il corso d'acqua.

Da tale rielaborazione delle zone vulnerabili ne è risultato, quindi, il raddoppio di queste ultime, passate dai circa 158mila ettari (D.G.R. n. 700 del 18 febbraio 2003) agli attuali 316.470 ettari, pari al 23,15% della superficie totale regionale. Perché soggette ai nuovi obblighi ed alle limitazioni degli spandimenti degli effluenti zootecnici già previsti per tali zone si prevedono non più di 170 kg di azoto totale per ettaro per anno, invece di 340 kg di azoto totale per ettaro per anno, previsto per quelle non vulnerabili.

Tabella 1.1 – Ripartizione provinciale delle ZVNOA 2017. Fonte: Regione Campania

Provincia	Comuni interessati	Superficie in ettari delle ZVNOA	Incidenza delle ZVNOA sulla superficie provinciale
Avellino	61	19.430,03	6,9 %
Benevento	35	18.288,65	8,8 %
Caserta	86	122.870,65	46,3 %
Napoli	75	92.624,19	78,6 %
Salerno	54	63.256,81	12,8 %

1.5 Dati di monitoraggio dei nitrati nelle acque- Regione Campania

I dati di seguito riportati si riferiscono essenzialmente a parametri idrogeologici, alla composizione dello strato superficiale del suolo, nonché alla presenza di acque con concentrazione di nitrati superiori a 50 mg/l.

1.5.1 Acque sotterranee

Nel 2002, in funzione della classificazione dello Stato Ambientale (SAAS) dei corpi idrici sotterranei, è stata espletata la fase conoscitiva preliminare, come previsto dal D.lgs. n. 152/99 e s.m.i., attraverso l'analisi di serie storiche di dati (non

antecedenti il 1996) rappresentativi di ben 422 punti d'acqua, risultanti da campagne mirate o raccolti, spesso anche con finalità diverse, presso i Dipartimenti Provinciali dell'ARPAC ed altri Enti.

Tale ricognizione ha reso possibile una prima caratterizzazione delle acque di sorgenti e di pozzi, funzionale anche alla configurazione di una prima rete sperimentale per il monitoraggio ed all'ubicazione delle singole stazioni di campionamento.

Il monitoraggio dei nitrati nelle acque sotterranee è stato condotto campionando punti d'acqua, pozzi e sorgenti, individuati come siti rappresentativi dei corpi idrici sotterranei della Campania ed inclusi nella rete di monitoraggio avviata dall'ARPAC nell'autunno 2002. Tali siti sono campionati, con le modalità e le frequenze dettate dalla normativa vigente, D.lgs. n.152/06 e s.m.i., che recepisce la Direttiva "Nitrati" 91/676/CEE. Nel 2015 i punti della rete ARPAC di monitoraggio delle acque sotterranee utilizzati per il reporting nitrati sono stati n. 205, di cui 46 sui corpi idrici sotterranei individuati nel Piano di Tutela delle Acque della Regione Campania ed ulteriori punti, integrati successivamente dal Piano di Gestione delle Acque, redatto a cura dell'AdB Nazionale LGV in sede distrettuale (D.lgs. n. 152/06).

Tale attività di implementazione, finalizzata ad allineare i programmi di monitoraggio delle acque con gli strumenti di pianificazione adottati in Campania in attuazione della Direttiva 2000/60/CE (Piano di Gestione delle Acque del Distretto Idrografico dell'Appennino Meridionale e Piano di Tutela delle Acque della Regione Campania) si è sviluppata a partire dal 2012. Pertanto, l'ARPAC ha provveduto ad implementare la rete, a copertura dei nuovi corpi idrici sotterranei, così come recentemente individuati e caratterizzati, al fine di garantire una completa coerenza della rete con il sistema dei corpi idrici definito sul sistema internazionale WISE del Ministero dell'Ambiente.

Un importante elemento di criticità è stato rappresentato però dalla mancanza di informazioni complete e dettagliate relative alla profondità dei punti di prelievo e più in generale di informazioni di tipo idrologico e stratigrafico e, dunque, dalla difficoltà di attribuzione dei campioni analizzati ai singoli acquiferi sotterranei. A ciò si è aggiunta la strutturale carenza di dati sistematici sullo Stato Quantitativo degli acquiferi. I punti della rete, individuati anche di concerto con le Autorità di Bacino, consentono oggi il monitoraggio dei principali acquiferi carbonatici, vulcanici ed alluvionali della regione, che costituiscono i maggiori settori di approvvigionamento idropotabile, nonché le aree ad elevata criticità ambientale.

I primi sono caratterizzati da fattori idrologici che mettono a rischio la disponibilità di risorse in periodi di magra, gli ultimi rappresentano situazioni particolarmente a rischio di inquinamento. Tutti i punti d'acqua risultano di proprietà di enti gestori della

risorsa idrica ovvero di amministrazioni pubbliche e, solo in assenza di altre possibilità, si è fatto ricorso al monitoraggio di punti d'acqua di privati.

La Regione ha trasmesso ad APAT, ai sensi del D.M. 18 settembre 2002, i dati di monitoraggio dei nitrati rilevati nelle acque sotterranee nel quadriennio 1999/2002 relativi a 20 stazioni.

Tabella 1.2 – Valori medi riscontrati nelle acque sotterranee – Biennio 2001/2002. Fonte APAT

N. dati	Intervallo valori
0	0 - 24 mg/l
0	25 - 39 mg/l
2	40 - 50 mg/l
18	oltre 50 mg/l

Le concentrazioni di nitrati nella Regione Campania sono piuttosto alte. Infatti, come si evince dai dati riassunti nella precedente tabella, in 18 stazioni è stato riscontrato un valore medio di concentrazione superiore a 50 mg/.

Anche per il biennio 1999-2000 si conferma la tendenza negativa per quanto riguarda i valori delle concentrazioni: in 20 stazioni si è rilevato un valore superiore ai 50 mg/l e le restanti 6 hanno fatto rilevare un valore la cui media è compresa tra 40 e 50 mg/l (23%).

La Regione Campania in conclusione ha trasmesso i dati di monitoraggio relativi agli anni 1999/2000, 2001/2002, 2002/2003. Tuttavia, non essendo disponibili dati omogenei per quanto riguarda le stazioni di monitoraggio, si è potuto tracciare una tendenza unicamente relativa all'incidenza dei valori di concentrazione media dei nitrati nelle 4 classi di qualità proposte dalla Commissione Europea.

Tabella 1.3 – Trend acque sotterranee. Fonte APAT

Anni di riferimento	Intervalli valori			
	0 - 24 mg/l	25 - 39 mg/l	40 - 50 mg/l	oltre 50 mg/l
1999/2000	0	0	6	20
2001/2002	0	0	2	18
2002/2003	55	3	1	14

1.5.1 Acque superficiali

L'attività di monitoraggio delle acque superficiali nella Regione Campania, grazie alle attività svolte da tutti i Dipartimenti Provinciali ARPAC, si è tradotta nella raccolta sistematica di una consistente mole di dati – ben 984 campioni in 12 mesi – sufficienti a produrre una prima classificazione nelle 84 stazioni monitorate.

Contrariamente a quanto visto per le acque sotterranee, la concentrazione media di nitrati nelle acque superficiali non raggiunge livelli di attenzione. Su 84 stazioni monitorate, infatti, è stato riscontrato un valore medio superiore ai 24 mg/l

Per quanto riguarda le concentrazioni massime, di 82 campionamenti totali, 5 presentano valori superiori ai 50 mg/l e 4 presentano valori compresi tra i 40 mg/l ed i 50 mg/l. Il valore più alto è pari a 79,74 mg/l ed è stato rilevato nella stazione di monitoraggio denominata C11.

Tabella 1.4 – Valori massimi riscontrati nelle acque superficiali. Biennio 2001/2002. Fonte APAT

N. dati	Intervallo valori
61	0 - 24 mg/l
12	25 - 39 mg/l
4	40 - 50 mg/l
5	oltre 50 mg/l

Sulla base di questo monitoraggio conoscitivo del territorio è stata poi implementata la superficie di territorio regionale interessata da inquinamento da nitrati, considerando le i campionamenti e le analisi svolte tra il 2012 e il 2015 sulle acque sotterranee e sui corpi idrici superficiali.

Si è ritenuto di considerare positive le stazioni di monitoraggio che, con valori compresi tra 25,1 e 40,0 mg/L, e che quindi non risulterebbero “contaminate” presentano una tendenza fortemente crescente ($\geq 5,1$ mg/L). Per contro le stazioni di monitoraggio sono state valutate non positive quando pur con un valore compreso tra 40,1 e 50,0 mg/L manifestano tendenze fortemente decrescenti ($\leq -5,0$ mg/L). Complessivamente le 205 stazioni di monitoraggio delle acque sotterranee nel periodo 2012-2015 si ripartiscono secondo le seguenti classi per ognuno dei due parametri Tabelle D.2, D.3 e D.4.

Tabella 1.5 – Tabelle D. 2, D.3 e D.4. Fonte: APAT.

VALORI Nitrati(mg/L)	Numero Stazioni
0 mg/L < $[\text{NO}_3^-]$ ≤ 24,99 mg/L	161
25 mg/L ≤ $[\text{NO}_3^-]$ ≤ 39,99 mg/L	12
40 mg/L ≤ $[\text{NO}_3^-]$ ≤ 50 mg/L	6
$[\text{NO}_3^-]$ > 50 mg/L	26

TREND	Numero Stazioni
≤ -5,0	20
-4,9 / -1,0	26
-0,9 / 1,0	89
1,1 / 5,0	35
≥ 5,1	35

Tabella D.2

Tabella D.3

VALORI Nitrati(mg/L)	TREND				
	≤ -5,0	-4,9 / -1,0	-0,9 / 1,0	1,1 / 5,0	≥ 5,1
0 mg/L < $[\text{NO}_3^-]$ ≤ 24,99 mg/L					
25 mg/L ≤ $[\text{NO}_3^-]$ ≤ 39,99 mg/L					3
40 mg/L ≤ $[\text{NO}_3^-]$ ≤ 50 mg/L		31			
$[\text{NO}_3^-]$ > 50 mg/L	1				

Tabella D.4

1.6 La gestione dell'azoto di origine zootecnica: tecniche di risoluzione

La via della delocalizzazione degli effluenti zootecnici/digestati verso aree agricole potenzialmente ricettive non è sempre perseguibile, e per i costi, e per le difficoltà di convincere gli agricoltori che non allevano animali ad accettare effluenti zootecnici/digestato per la fertilizzazione dei loro terreni.

Le strategie volte a limitare l'accumulo di elevate quantità di nitrati nel terreno rispetto ai fabbisogni della coltura, sono:

- la sincronizzazione della domanda e dell'offerta (distribuzione) di N alle piante,
- la limitazione nell'uso di fertilizzanti azotati nei periodi di attesa elevata piovosità,
- la coltivazione di *cover crop* (colture di copertura) durante il periodo autunno-vernino,
- il bilanciamento degli apporti di nutrienti, anche affidandosi a opportuni indicatori dello stato nutrizionale della coltura e la scelta della forma dell'azoto (organica, ureica, ammoniacale o nitrica),

- l'impiego di inibitori della nitrificazione,
- l'impianto di fasce e bordure erbose non fertilizzate lungo i corsi d'acqua ed i fossi (effetto "tampone").

Accanto alle strategie volte ad evitare un accumulo di nitrati nel terreno, è nata l'esigenza di ricorrere anche a tecnologie di riduzione dell'azoto contenuto nei liquami/digestati.

A questa crescente domanda l'industria di mezzi tecnici sta cercando di dare una risposta offrendo soluzioni tecnologiche che dovrebbero rispondere ai requisiti della sostenibilità economica e dell'applicabilità in un contesto aziendale agricolo.

I processi oggi in uso per la rimozione dei composti di azoto presenti nelle acque reflue non possono essere applicati ai reflui di allevamento e ai digestati anaerobici zootecnici, in quanto l'elevato contenuto di azoto ammoniacale (1500-4000 mg/l) inibisce il metabolismo dei Nitrobacter, causando un accumulo di nitriti.

Le tecnologie di trattamento sono anch'esse molteplici e possono essere classificate secondo criteri diversi: si possono suddividere i metodi in base al meccanismo di azione, dividendo i metodi chimici e fisici da quelli biologici, oppure è possibile classificare i metodi in base alla finalità, separando i metodi tesi al recupero da quelli tesi alla rimozione.

Si possono quindi distinguere:

- **tecnologie di recupero:** sono tecnologie che lavorano sull'allontanamento delle diverse forme di azoto e/o altri elementi fertilizzanti, quali fosforo e potassio, in uno o più flussi in cui vengono concentrati per renderli più facilmente trasportati e utilizzabili ai fini agronomici. I processi di questo tipo sono sempre di natura chimica e/o fisica e sfruttano fonti energetiche spesso disponibili a basso costo in azienda, quale il calore da cogenerazione del biogas. Tali processi, in linea generale, operano sulla separazione fisica, sulla filtrazione, sulla precipitazione, sullo strippaggio, sull'essiccamento e possono utilizzare reagenti chimici per aiutare il processo e/o bloccare in altre forme il flusso dell'elemento trattato;
- **tecnologie di abbattimento/rimozione:** le tecnologie di questo tipo operano quasi esclusivamente su sistemi biologici e hanno lo scopo di trasformare le forme di azoto presenti negli effluenti/digestati in azoto atmosferico (N₂). Una delle tecnologie più conosciute è la nitrificazione/denitrificazione biologica, ovvero sue varianti processistiche a ridotto consumo di ossigeno, con impiantistiche più o meno complesse.

Le tecnologie possono essere presenti in forma complessa e aggregata in un impianto e possono lavorare sia nel pretrattamento delle matrici in utilizzo per la digestione anaerobica che come post-trattamento del digestato.

Molto spesso possono essere presenti linee di trattamento che prevedono prima una sezione chimico-fisica e successivamente una linea biologica con recupero ovvero abbattimento.

Di fronte a questa variegata offerta tecnologica, l'agricoltore/allevatore/gestore impianto biogas e le Autorità Competenti preposte al rilascio dei permessi e ai controlli, si trovano a volte privi di criteri di valutazione e di supporto tecnico adeguato.

Nelle singole aziende, quindi, specie in quelle di piccole dimensioni, dove è difficile installare sistemi capaci di azzerare il surplus di sostanza azotata presente nei reflui zootecnici, si può ipotizzare un primo trattamento in azienda combinato con una gestione a livello consortile dell'effluente risultante (per l'utilizzazione agronomica o l'esportazione come fertilizzante), oppure, in altri casi, si può optare per una gestione interamente centralizzata.

Per realizzare il trattamento, quindi, si possono adottare diverse linee di gestione, quali:

Processi fisici:

- filtrazione a membrane;
- separazione solido-liquido

Processi fisico-termici:

- stripping dell'ammoniaca;
- disidratazione, essiccazione

Processi biologici:

- digestione anaerobica;
- nitrificazione-denitrificazione;
- deammonificazione (ANAMMOX);
- fitodepurazione

- Il conferimento degli effluenti zootecnici a depuratori civili potrebbe essere un'ulteriore soluzione, essendo analoghi gli scopi; tuttavia, rimangono i problemi dei costi di conferimento ai depuratori e della necessità del loro adeguamento alla ricezione dei reflui zootecnici, attuabile in tempi medio-lunghi, anche se è stato anche proposto il reimpiego di impianti di trattamento dei reflui civili ormai dismessi per trattare i reflui zootecnici.

Si descrivono di seguito i principali metodi di trattamento del digestato zootecnico.

1.6.1 La separazione solido-liquido

Tra le tecniche di trattamento degli effluenti zootecnici e dei digestati, quella di separazione solido-liquido è senza dubbio la più diffusa ed offre indubbi vantaggi di ordine gestionale ed agronomico.

Con la separazione solido-liquido si ottengono una frazione solida o densa ed una liquida chiarificata, aumentando, quindi, la concentrazione di N in una delle due matrici.

Come avviene per l'effluente tal quale o per il digestato, entrambe le frazioni, prima del loro utilizzo agronomico, devono essere sottoposte a un periodo di stoccaggio obbligatorio nel corso del quale i materiali subiscono processi di stabilizzazione che ne riducono le emissioni odorigene e la carica microbica.

I due materiali possiedono caratteristiche distintive:

- la frazione solida ha un tenore di sostanza secca (o solidi totali – ST) relativamente elevato (dal 15 sino al 30% circa a seconda della tecnica utilizzata e del materiale in ingresso) e può avere consistenza da pastosa a palabile; concentra in sé la sostanza organica (o solidi volatili – SV) ed i nutrienti sotto forma organica, a più lento rilascio;
- la frazione chiarificata è generalmente caratterizzata da tenori di sostanza secca da 1 a 8% circa e concentra in sé i composti solubili, tra cui l'azoto in forma ammoniacale, a più pronto effetto concimante.

I sistemi di separazione adottabili in allevamento e/o nell'impianto di biogas sono vari e permettono di ottenere la sola separazione dei solidi grossolani, cioè quelli con dimensioni maggiori di 0,1 mm (vaghi vibranti o rotativi, separatori a compressione elicoidale e a rulli contrapposti), oppure la separazione dei solidi grossolani assieme a quelli fini, cioè anche quelli di dimensioni inferiori a 0,1 mm (sedimentatori, flottatori, centrifughe).

Se si guarda alla diffusione dei vari sistemi di separazione si può notare la diffusione prevalente di quelli basati sulla compressione elicoidale e sui rulli contrapposti.

Si tratta di macchine di livello medio, sia come prestazioni che come costi di investimento e di gestione; questo è il motivo principale che ne ha favorito un'elevata diffusione negli allevamenti zootecnici e negli impianti di biogas.

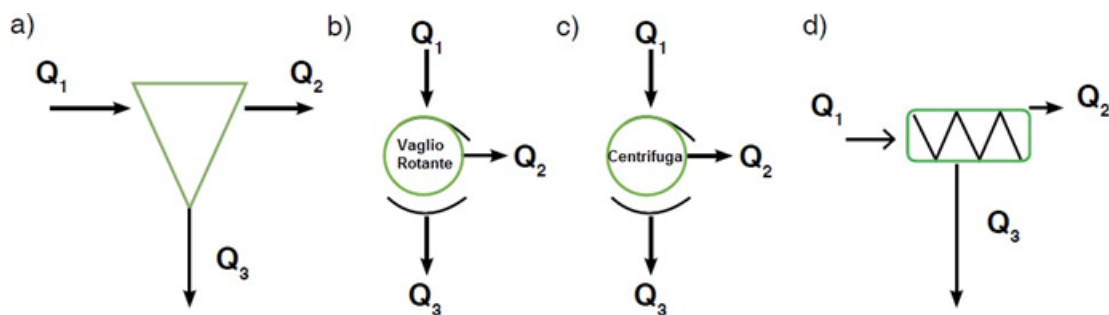


Figura 1.3 – Schema delle tecnologie di separazione solido-liquido: a) sedimentazione, b) vagliatura rotante, c) centrifugazione e d) compressione elicoidale. Q_1 : introduzione del liquame/digestato Q_2 : frazione liquida chiarificata, Q_3 : frazione solida/densa. Fonte: CRPA.

Il modo in cui il liquame/digestato viene disidratato influisce sulla rimozione/recupero dei nutrienti, poiché le varie tecniche incidono sul contenuto dei nutrienti nelle frazioni liquida e solida (Hjorth et al., 2010).

Le tecniche di separazione solido-liquido più appropriate per il trattamento degli effluenti zootecnici e dei digestati sono: compressione elicoidale, rotativa a rulli contrapposti, centrifugazione orizzontale, flottazione.

Separatore a compressione elicoidale

Nel separatore a compressione elicoidale il liquame viene compresso da una vite senza fine entro un filtro cilindrico, costituito da barre di acciaio (0,5-1 mm): la frazione liquida passa attraverso le fessure del filtro mentre quella solida viene pressata dalla vite contro un regolatore di portata, da tarare sulla base delle caratteristiche qualitative del materiale in ingresso.

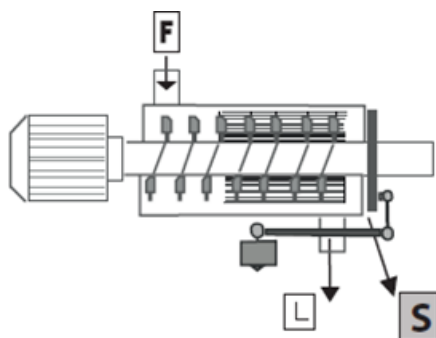


Figura 1.4 – Schema di un separatore a compressione elicoidale. F : influente, L : frazione liquida chiarificata, S : frazione solida. Adattato da Burton e Turner (2003).

Separatore rotante a rulli contrapposti

Nel separatore a rulli contrapposti si ha un sistema meccanico costituito da un vaglio cilindrico rotante e due rulli pressori in gomma. La separazione avviene facendo

passare in continuo il liquame attraverso le maglie del cilindro rotante. I due rulli pressori provvedono a comprimere, con forza regolabile, il liquame in ingresso e contribuiscono a disidratare ulteriormente la frazione solida che non ha attraversato le fessure del vaglio cilindrico. Quest'ultima viene poi rimossa con l'aiuto di una lama fissa che sfiora la superficie del cilindro.

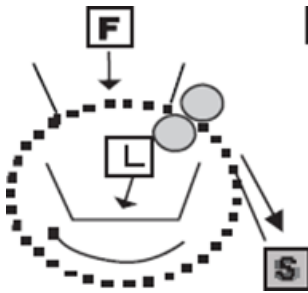


Figura 1.5 –Schema di un separatore rotante a rulli contrapposti. F: influente, L: frazione liquida chiarificata, S: frazione solida. Adattato da Burton e Turner (2003).

Centrifuga ad asse orizzontale

La separazione meccanica dei solidi, sia grossolani che fini, viene effettuata in genere nei liquami zootecnici e nei digestati mediante centrifughe. L'impiego di centrifughe (nella figura centrifuga ad asse orizzontale) consente di ottenere una rimozione ottimale di sostanza secca, sostanza organica, azoto organico e fosforo da liquami zootecnici e/o digestati, con utilizzo nullo o minimo di additivi chimici. Per effetto della velocità differenziale tra tamburo e coclea, il solido separato viene trascinato da quest'ultima verso la sezione conica del tamburo dalla quale, dopo aver subito un'ulteriore sgrondatura, fuoriesce attraverso i fori di scarico. La fase liquida viene allontanata, invece, dalla parte opposta del tamburo attraverso delle luci che, regolabili in altezza, permettono di scegliere il battente liquido più idoneo in funzione del tipo di prodotto da trattare e del grado di separazione che si vuole ottenere.

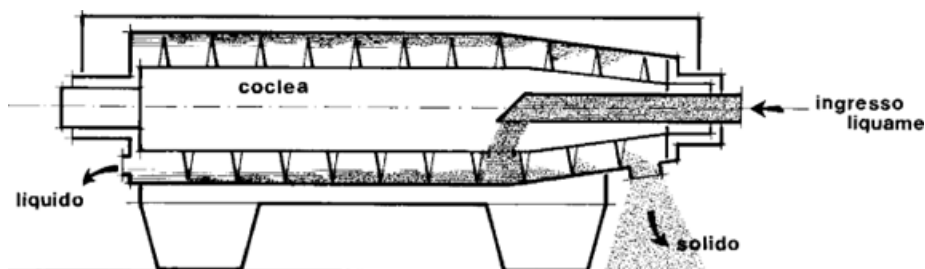


Figura 1.6 –Schema centrifuga ad asse orizzontale. Adattato da Burton e Turner (2003).

L'uso di additivi chimici aumenta l'efficienza di separazione meccanica della centrifuga, riduce la concentrazione di fosforo nella frazione liquida e aumenta il tenore di sostanza secca nella frazione solida.

Flottatore

Nei liquami, le particelle colloidali non sono aggregate perché sono cariche negativamente e si respingono (Gregorio, 1989). La loro aggregazione può essere agevolata aggiungendo cationi multivalenti (principalmente cloruri di ferro e alluminio, solfati di ferro e alluminio, nonché ossidi di calcio e magnesio) che favoriscono la coagulazione, la formazione di polimeri e la loro successiva flocculazione.

I flottatori sono costituiti da vasche nelle quali l'insufflazione d'aria sul fondo, effettuata secondo una opportuna tecnica, abbinata all'uso di additivi chimici (flocculanti), fa sì che le particelle solide vengano aggregate e trascinate alla superficie. Da questa vengono periodicamente rimosse mediante un ponte raschiafanghi. La flottazione, generalmente, è presa in considerazione nel caso in cui la frazione liquida separata sia poi avviata ad un successivo trattamento depurativo; infatti il processo di flottazione, utilizzando additivi chimici, è in grado di rimuovere anche parte della frazione sospesa colloidale, che rappresenta una quota rilevante della sostanza organica difficilmente biodegradabile.

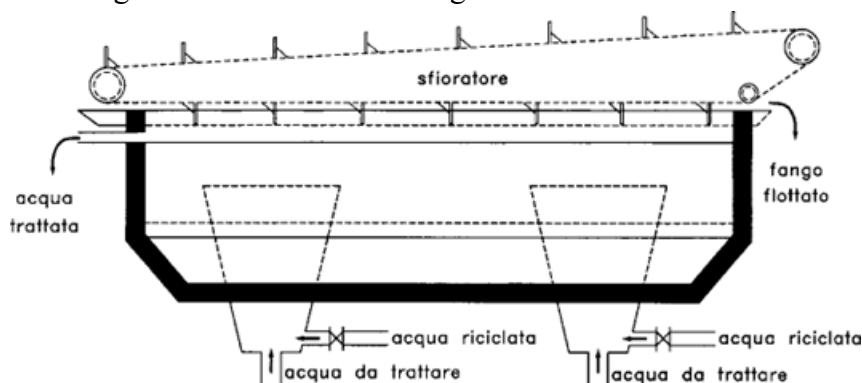


Figura 1.7 – Schema di impianto di flottazione rettangolare dotato di sfioratore del fango. Adattato da Burton e Turner (2003).

Per quanto riguarda l'efficienza di separazione il CRPA (Centro Ricerche Produzioni Animali) ha condotto numerose prove di separazione solido-liquido in condizioni operative reali in allevamenti (bovini e suini) e impianti di biogas (operanti su effluenti zootecnici e colture dedicate), ove sono state applicate le due tecniche più diffuse (compressione elicoidale e rulli contrapposti). Per ogni test di verifica sono stati campionati sia l'effluente all'ingresso del dispositivo di trattamento sia le due frazioni prodotte (solido separato e frazione chiarificata) e su ognuno di essi sono state condotte diverse analisi chimiche tra cui: solidi totali, solidi volatili, azoto totale, azoto ammoniacale.

Soffermandosi in particolare sull'efficienza di rimozione dell'azoto totale e azoto ammoniacale si può evidenziare che l'efficienza di separazione dell'azoto totale cresce all'aumentare del contenuto di azoto totale nei reflui avviati al trattamento: si passa da

valori medi del 3-5% quando viene trattato un effluente al 2% di solidi totali per raggiungere valori massimi del 30-35% quando si opera su effluenti al 10-12% di solidi totali. Non sono state riscontrate differenze significative, a parità di contenuto di solidi totali, tra la tecnica a compressione elicoidale e i rulli contrapposti. I valori medi sono risultati pari a: circa 23% per i liquami bovini, 13-14% per il digestato e 7-9% per i liquami suini.

L'efficienza di separazione dell'azoto ammoniacale, infine, è risultata in linea con quanto descritto per l'azoto totale. Le due tecniche, per quanto diverse, in definitiva hanno efficienze di separazione simili nei confronti delle diverse componenti e influenzate in primo luogo dal contenuto di solidi totali e dal tipo di frazione particellare presente. Il contenuto di solidi totali può incidere notevolmente e pertanto è fondamentale, al fine di avere buone efficienze di separazione, cercare di escludere ove possibile le diluizioni dovute all'immissione di acque meteoriche, di abbeverata e di lavaggio nei liquami.

La gestione delle due frazioni separate risulta più agevole rispetto a quella del liquame tal quale: la frazione liquida chiarificata è generalmente caratterizzata da tenori di sostanza secca da 1 a 8% circa e concentra in sé i composti solubili, tra cui l'azoto in forma ammoniacale, si presta meglio all'uso agronomico, essendo più uniforme, più facilmente movimentabile (minor rischio di intasamento delle condutture e di formazione di crostoni e sedimenti nelle vasche di stoccaggio, minore necessità di miscelazione) e più rapidamente soggetta a infiltrazione nel terreno, creando minore intasamento di quest'ultimo e imbrattando meno le colture; permette anche la distribuzione tramite fertirrigazione.

In particolare, se si tratta della frazione liquida di effluenti da digestione anaerobica, l'alta percentuale di azoto in forma ammoniacale ne fa un fertilizzante ad alto coefficiente di utilizzo di N.

Oltre alla facilitazione dell'uso agronomico, la frazione liquida si presta a trattamenti ulteriori quali: digestione anaerobica, che può beneficiare dell'eliminazione dei solidi grossolani, materiali del resto poco degradabili, a cui si possono imputare formazione di crostoni e problemi di sedimentazione; trattamenti microbiologici di rimozione di N, facilitati dalla rimozione di materiale poco digeribile; trattamenti di fitodepurazione, per i quali l'eliminazione di parte dei solidi permette di non saturare la porosità del letto di percolazione, oltre a ridurre l'accumulo di solidi all'ingresso del sistema e a permettere il rilascio di un effluente finale più bilanciato in termini di N e, in generale, trattamenti più avanzati, anche finalizzati alla gestione dell'azoto.

L'ulteriore vantaggio della frazione liquida è quello di poter essere utilizzata per la pulizia delle stalle tramite il flushing con ricircolo dei liquami, oppure, depurata in ambito aziendale e, fortemente alleggerita dei nutrienti, può essere scaricata in

pubblica fognatura per il trattamento finale in depuratore civile e/o utilizzata per fertirrigazione.

La frazione solida (con consistenza pastosa o palabile) con contenuti di sostanza secca molto variabili a seconda della tecnica usata, che comunque possono arrivare oltre il 20% fino al 40%, presenta un quantitativo consistente di azoto organico, il 60-80% di quello totale e concentra sostanza organica e nutrienti a lento rilascio, ma anche gli eventuali metalli pesanti (in particolare, con l'aggiunta di flocculanti si concentrano nel solido zinco, rame e cadmio).

La frazione solida necessita di un periodo di sosta su platea impermeabilizzata e possibilmente coperta (meglio se con muri di contenimento, in modo da aumentare l'altezza del cumulo e agevolare il carico), con convogliamento delle acque di sgrondo, al fine di aumentarne la stabilità e di ridurre l'emissione di odori molesti; dopodiché si ottiene un materiale con caratteristiche ammendanti, adatto alle concimazioni di fondo e distribuibile con minori rischi ambientali rispetto al liquame.

L'azoto contenuto viene comunque classificato come zootecnico da un punto di vista normativo, ma con il notevole vantaggio di un più facile trasporto altrove, con possibile cessione ad aziende non zootecniche anche se si tratta di un materiale che non è né completamente stabilizzato né sanificato, e il suo trasporto potrebbe creare problemi di diffusione di patogeni.

I possibili trattamenti di stabilizzazione comprendono compostaggio, stabilizzazione con calce (con recupero dell'ammoniaca volatilizzata) per produrre un ammendante privo di odori molesti e patogeni.

Un ulteriore utilizzo potenziale della frazione solida è quello energetico, mediante essiccazione (agevolata dal parziale allontanamento di liquido), combustione o digestione anaerobica (ciò vale in particolare per i fanghi da flottazione o sedimentazione) con recupero di biogas in un centro interaziendale. L'utilizzazione della frazione solida come substrato per la produzione di biogas deve rispettare un contenuto d'acqua tale per cui si ha un maggiore contenuto specifico di sostanza secca e di sostanza organica.

Pur essendo relativamente semplice ed efficace ottenere la separazione dei liquami zootecnici nelle due frazioni solida e chiarificata, di solito si riscontrano difficoltà nel trovare adeguata valorizzazione al solido separato come fertilizzante fuori dell'azienda zootecnica. La delocalizzazione al di fuori delle aree a elevata densità di allevamenti è sfavorita dalle distanze che il solido separato, con tenore di umidità ancora troppo alto e contenuto di nutrienti relativamente basso, dovrebbe percorrere. La possibilità di avviare le frazioni solide degli effluenti zootecnici alla digestione anaerobica per la produzione di biogas, magari delocalizzandoli al di fuori delle aree a più elevata densità di allevamenti, dovrebbe risultare favorita dall'applicazione del DM 6 luglio 2012, in attuazione dell'articolo 24 del D.Lgs. n. 28 del 3 marzo 2011, che ha ridefinito

il quadro degli incentivi per gli impianti di biogas che saranno messi in esercizio a partire dal 2013.

Le indicazioni che emergono dal decreto, infatti, mettono in luce una chiara intenzione da parte del legislatore di incentivare soprattutto impianti di piccola taglia alimentati da sottoprodotti di recupero come possono essere le frazioni solide degli effluenti di allevamento. In quest'ottica risulterà fondamentale ottimizzare le rese e i costi di separazione, conservare il più possibile il potenziale metanigeno delle frazioni solide e valutare con attenzione tutti i costi e i benefici dell'operazione di separazione/trasporto/digestione anaerobica.

1.7 I trattamenti biologici e ciclo dell'azoto

Passando ai trattamenti di tipo biologico, essi sono basati fondamentalmente sull'impiego di microrganismi.

Tra le tecniche microbiologiche non può ormai più trovare posto la deodorizzazione aerobica, usata nel passato non tanto per rimuovere azoto, quanto appunto per evitare che nel liquame si sviluppasse processi anaerobici responsabili della produzione di acidi organici, sostanze alcaline, composti ammoniacali e solfidrici, e di conseguenza di odori molesti.

Attraverso una blanda ossigenazione, questi processi vengono soppiantati da processi aerobici, che degradano parzialmente la sostanza organica, riducono il contenuto di solidi, operano una stabilizzazione, ma immettono anche in aria forti quantità di ammoniaca, con perdite di N per volatilizzazione anche superiori al 50%.

Per assicurare la crescita della biomassa e quindi il processo biologico stesso, è necessaria una minima quantità di nutrienti (azoto e fosforo) in rapporto al carico di sostanza organica in ingresso (espressa come kgBOD/d); in particolare deve essere: BOD: N: P $\approx$ 100: 5: 1.

I passaggi più importanti dal punto di vista ambientale sono nitrificazione, denitrificazione e ANAMMOX che permettono di rimuovere composti chimici potenzialmente dannosi come i nitrati e l'ammoniaca.

A tale proposito si riporta di seguito uno schema che racchiude il ciclo dell'azoto nei depuratori biologici, nei quali l'azoto organico e/o ammoniacale in arrivo subisce due processi successivi:

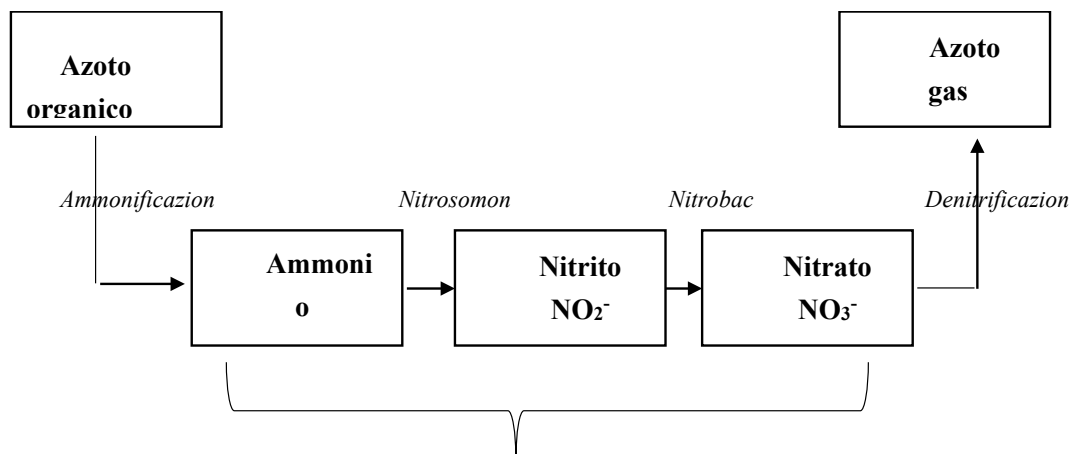


Figura 1.8 – Ossidazione biologica dell'azoto. Adottato da Lisa Y. Stein e Martin G. Klotz. (2016)

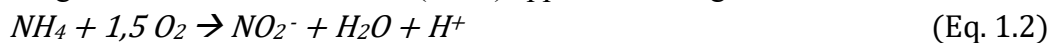
- 1- In ambiente aerobico viene ossidato biologicamente a nitrato (nitrificazione)
- 2- In ambiente anossico il nitrato viene convertito in azoto gas (denitrificazione)

La somma dell'azoto contenuto nei composti derivanti dai processi biologici con l'azoto contenuto nella biomassa e quello organico costituisce il TKN (Total Kjeldahl Nitrogen), ovvero l'azoto totale ottenuto come somma dell'azoto organico e dell'ammoniaca.

1.7.1 Nitrificazione

La nitrificazione è un processo biologico che consiste nella trasformazione dell'ammonio (NH_4^+) (liberato dalla sostanza organica o già presente) in nitrito (NO_2^-) e successivamente in nitrato (NO_3^-).

Il primo step prende il nome di nitrificazione o nitrosazione e viene effettuato da microrganismi ammonio ossidanti (AOB) appartenenti al genere *Nitrosomonas*.



Lo ione idrogeno viene rilasciato durante il processo causando un abbassamento del pH, e conseguente diminuzione dell'alcalinità.

Il secondo step consiste nella trasformazione del nitrito in nitrato e viene definito nitratazione.

I batteri responsabili di questo passaggio vengono definiti nitrito ossidanti (NOB) e appartengono al genere *Nitrobacter*:



Le velocità delle reazioni delle due tipologie di batteri sono tra di loro differenti: i *Nitrobacter* sono di gran lunga più veloci dei *Nitrosomonas*, infatti all'interno di un processo di trattamento, tendenzialmente si trova o la forma ridotta o i nitrati perché, avvenuta la reazione di nitrificazione, i *Nitrobacter* lavorano l'azoto molto più rapidamente e quindi le concentrazioni dei nitriti sono molto basse.

Entrambi i processi richiedono ossigeno e devono quindi necessariamente avvenire in condizioni aerobiche: la concentrazione di ossigeno disciolto deve essere intorno a 1,0 mg/L e mai inferiore a 0,5 mg/L. La massa batterica nitrificante è stimabile nel 10 %

dell'azoto ossidato, ossia un consumo di 100 Kg di azoto identifica la presenza di 10 Kg di massa batterica

Sia *Nitrosomonas* che *Nitrobacter* sono batteri chemio-autotrofi che utilizzano carbonato di calcio (CaCO_3) e di potassio (K_2CO_3) come fonte di carbonio e richiedono un ambiente neutro o parzialmente alcalino per portare a termine le reazioni. Fornendo del bicarbonato si può riportare il pH a livelli compresi tra 7 e 8, consentendo ai batteri di mantenere un optimum di attività.

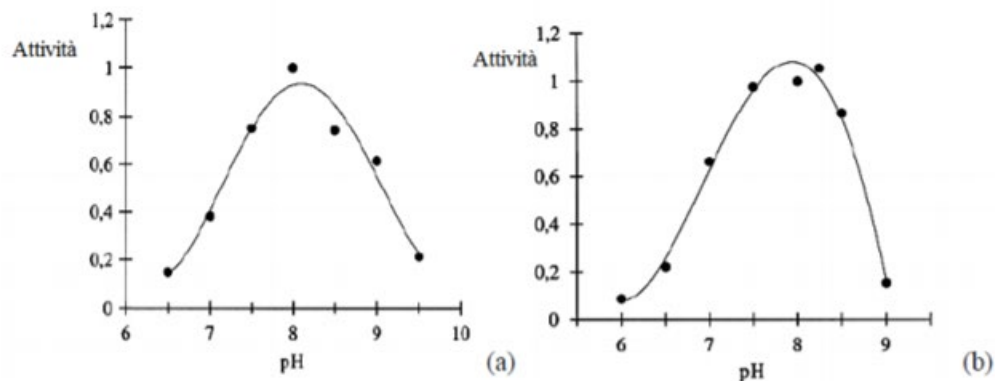


Figura 1.9 –Influenza del pH sull'attività dei batteri *Nitrosomonas* (a) e *Nitrobacter* (b) (Grundhiz e Dalhmar, 2001).

La nitrificazione raggiunge un valore ottimale a temperature comprese tra 30° C e 35 ° C al di sopra o sotto di tali valori il processo risulta essere compromesso e il tasso di crescita dei microrganismi è estremamente ridotto.

L'effetto della temperatura può essere osservato attraverso l'equazione di Arrhenius:

$$\mu_{m,A}(T) = \mu_{m,A}(20^\circ) \theta^{(T-20^\circ)} \quad (\text{Eq. 1.3})$$

dove $\mu_{m,A}$ corrisponde al massimo tasso di crescita dei batteri a una determinata temperatura, $\mu_{m,A}(20^\circ)$ è il tasso massimo di crescita a 20 °C e θ è il coefficiente di temperatura.

Sulla base di tale equazione risulta immediato definire a che temperatura i microrganismi possono raggiungere il picco di attività.

Il massimo dell'attività è a 35° C per *Nitrosomonas* e a 38° C per *Nitrobacter*.

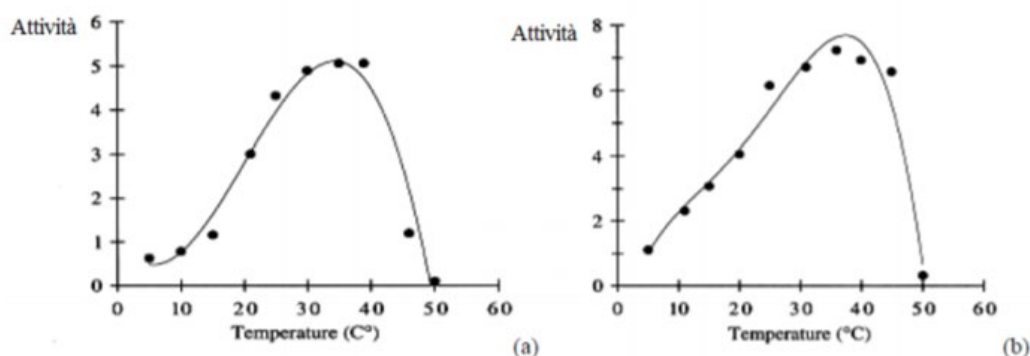


Figura 1.10 –Influenza della temperatura sull’attività dei batteri *Nitrosomonas* (a) e *Nitrobacter* (b) (Grundhiz e Dalhmar, 2001).

Nella nitrificazione l’azoto ammoniacale, liberato dalla mineralizzazione della sostanza organica o già presente, viene anzitutto ossidato a nitrito per azione soprattutto di batteri del genere *Nitrosomonas*: l’ossidazione dell’ammonio genera relativamente poca energia, quindi, i batteri hanno bisogno di una grande quantità di ammonio da ossidare per poter crescere; in seguito, il nitrito viene ulteriormente ossidato a nitrato, principalmente per azione di batteri del genere *Nitrobacter*.

In entrambi i passaggi operano batteri che necessitano di condizioni strettamente aerobiche, con concentrazioni di ossigeno disciolto intorno ai 2 mg/L: valori superiori sono di fatto inutili e rappresentano uno spreco inutile di energia elettrica se l’ossigeno viene fornito con aeratori classici (turbine superficiali o piattelli sommersi).

Per garantire condizioni ottimali, pertanto, il pH dovrebbe rimanere tra 7,5 e 8,5 grazie al potere tamponante dei liquami che è sufficiente a evitare uno spostamento del pH in campo troppo acido a causa della produzione di ioni H^+ , mentre la temperatura tra +15 e +30°C, poiché i batteri nitrificanti sono molto sensibili ai cambiamenti nelle condizioni del loro ambiente.

La nitrificazione può essere realizzata in reattori di vario tipo, anche a biomassa adesa, ma perlopiù si usano impianti a fanghi attivi con biomassa sospesa. Bisogna, tuttavia, considerare che i batteri nitrificanti sono presenti nel “fango attivo”, pertanto, qualsiasi perdita nel riduce la quantità quindi, considerando che la quantità di batteri nitrificanti che si sintetizza nel fango è piuttosto bassa, per averne una quantità sufficiente si deve avere un adeguato tempo di permanenza in vasca, ovvero bisogna avere una adeguata età del fango.

In pratica si effettua una regolazione mirata dell’estrazione dei fanghi di spurgo per permettere ai nitrificanti di effettuare l’operazione di ossidazione dell’ammoniaca a nitrato.

1.7.2 Denitrificazione

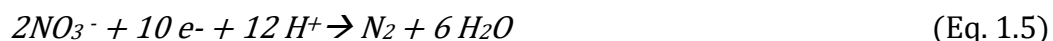
La denitrificazione è il processo biologico di riduzione del nitrito e del nitrato ad azoto molecolare (N₂) ad opera di batteri eterotrofi anaerobi del tipo *Pseudomonas*.

Questo processo si svolge in condizioni anossiche, cioè in assenza di ossigeno libero, poiché altrimenti i microrganismi in gioco utilizzano l'ossigeno come accettore di elettroni per la respirazione anziché ridurre il nitrato; la concentrazione di ossigeno deve rimanere al di sotto di 0,5 mg/L, idealmente sotto a 0,2 mg/L, perché, quindi, se si superasse tale valore tornerebbero attivi i nitrificanti.

I batteri, essendo eterotrofi, a differenza dei nitrificanti, impiegano le sostanze organiche come fonte di carbonio, le quali provengono da attività umane o, se non è sufficiente quello già presente nel refluo, si possono aggiungere composti organici, perlopiù si usa metanolo. La denitrificazione generalmente procede attraverso la combinazione di forme intermedie:



Il processo completo di denitrificazione può essere espresso come una reazione di ossidoriduzione:



La reazione di denitrificazione causa un aumento del pH il cui valore ottimale è compreso tra 7,0 e 8,5.

La temperatura influisce sul tasso di crescita dei batteri denitrificanti, in particolare si hanno maggiori incrementi di biomassa batterica ad alte temperature. La correlazione tra i due fattori può essere descritta con l'equazione di Arrhenius descritta in precedenza. La denitrificazione può avvenire in un range di temperatura compresa tra i 5° C e i 30° C in funzione della tipologia di sostanza organica.

La massa batterica denitrificante è stimabile nel 50 % dell'azoto molecolare prodotto, ossia una produzione di 100 Kg di azoto identifica la presenza di 50 Kg di massa batterica.

1.7.3 Deammonificazione (Anaerobic AMMonium OXidation)

L'importanza dei batteri Anammox è legata ai crescenti fenomeni di inquinamento delle acque causati da azoto e fosforo provenienti da attività sia industriali che agricole-zootecniche, come potenziale alternativa alla tradizionale combinazione nitro-denitro per la rimozione dell'azoto dai reflui. Quest'ultima, infatti, risulta essere energeticamente ed economicamente dispendiosa da un lato per il fabbisogno di ossigeno dei batteri nitrificanti e, dall'altra, per il fabbisogno di carbonio esogeno per i denitrificanti.

Al contrario i batteri Anammox, essendo autotrofi, utilizzando come fonte di carbonio l'anidride carbonica, mentre il fabbisogno di ossigeno risulta essere estremamente più contenuto rispetto a quello dei nitrificanti.

Il processo Anammox, inoltre, comporta una bassa resa in biomassa e di conseguenza una minore produzione di fanghi rispetto ai convenzionali sistemi di denitrificazione.

Questo costituisce il terzo fattore di riduzione dei costi e, insieme agli altri due, rende il processo Anammox estremamente vantaggioso dal punto di vista economico.

A questi si aggiungono anche benefici per l'ambiente, infatti i batteri Anammox consentono una riduzione delle emissioni di anidride carbonica rispetto ai convenzionali processi di nitrificazione-denitrificazione. Grazie al metabolismo autotrofo, la riduzione di questo importante gas serra si stima intorno al 90%.

La reazione ANAMMOX è stata scoperta negli anni '70 tramite degli studi termodinamici che ipotizzavano l'esistenza di una reazione anaerobica di ossidazione dell'ammonio, ma solo alla fine del ventesimo secolo alcune prove sperimentali, effettuate per mettere a punto nuove tecnologie di trattamento delle acque reflue, hanno permesso l'identificazione di nuove specie batteriche in grado di svolgere selettivamente questa reazione.

Le prove successive hanno dimostrato come i batteri ANAMMOX sono responsabili nella rimozione del 24 – 67 % dell'azoto nei sedimenti marini, e almeno dal 20 al 40 % di azoto negli oceani.

Gli ammonio ossidanti anaerobici sono stati documentati oltre che in sedimenti marini, costieri e negli estuari, anche in basalti anossici, in zone a basso contenuto d'ossigeno, nei ghiacciai marini e nei laghi d'acqua dolce, a conferma della grande ubiquità e della possibilità di colonizzazione di qualsiasi ambiente anaerobico contenente azoto.

Le configurazioni dei reattori anche per i processi biologici possono essere varie e, tra queste, oltre il processo in vasche separate, un certo successo su liquami suini sta avendo il sistema SBR (Sequencing Batch Reactor), sistema di trattamento a flusso discontinuo che utilizza biomassa sospesa in grado di incorporare le diverse fasi di trattamento in un unico bacino; questo impianto non si sviluppa nello spazio come i sistemi a fanghi attivi tradizionali, in cui il flusso da trattare passa da una vasca alla successiva, ma è orientato nel tempo permettendo variazioni del flusso in ingresso e in uscita, e del volume della vasca a seconda delle diverse strategie operative.

In una stessa vasca, attraverso miscelazione e ossigenazione discontinue, avvengono tutte le fasi di ossidazione e nitrificazione in aerobiosi, denitrificazione in anaerobiosi, sedimentazione, con scarico a fine ciclo.

Si possono gestire maggiori concentrazioni nel substrato e si ha una maggiore velocità di reazione rispetto al sistema tradizionale; inoltre, accorpendo tutte le fasi in un unico reattore, si contengono le dimensioni e si semplifica la costruzione.

La grande flessibilità di questo reattore consente di soddisfare numerose esigenze: è infatti in grado di operare a regime intensivo, con elevati carichi in ingresso di COD, chemical oxygen demand, e BOD, biological oxygen demand, o a regime minimo presentando una notevole resistenza agli shock dovuti agli improvvisi innalzamenti del carico organico durante la fase di alimentazione. L'applicazione di tale tecnologia impiantistica alla reazione ANAMMOX è particolarmente efficiente grazie alla

semplicità di gestione, l'omogeneità della miscela nel reattore, la stabilità e l'affidabilità per un lungo periodo, la possibilità di gestire periodicamente carichi di biomassa elevati e l'elevata efficienza di conversione dell'azoto.

Le condizioni all'interno della vasca devono essere tali da consentire la convivenza di batteri aerobici ammonio ossidanti e batteri anaerobici attraverso il controllo costante di numerosi parametri chimico – fisici.

1.8 Lo stripping

Le attuali tecniche utilizzate per ridurre il tenore di azoto nei liquami zootecnici si basano essenzialmente su due tipologie di interventi: la prima sulla riduzione dell'azoto proteico nella dieta; la seconda sulla diminuzione del contenuto di azoto nel liquame con il ricorso a tecnologie impiantistiche di trattamento dell'effluente zootecnico prima del suo impiego agronomico.

I trattamenti, sia fisico-meccanici sia biologici esposti in precedenza consentono una riduzione più o meno spinta dell'azoto del liquame, ma presentano la contropartita di avere elevati consumi energetici e di determinare una perdita di parte dell'elemento in atmosfera come ammoniaca.

È proprio a causa di questi due aspetti negativi che, ad esempio, l'aerazione non viene considerata «migliore tecnica disponibile» ai sensi della Direttiva Ippc (direttiva 96/61/Ce).

È necessario, perciò, trovare soluzioni alternative che riducano l'azoto nei liquami, evitando nel contempo la sua dispersione in atmosfera, e che siano energeticamente sostenibili.

La tecnica dello strippaggio per insufflazione d'aria prevede il passaggio dell'ammoniaca, presente nel liquame in soluzione acquosa, all'aria in forma gassosa.

Il flusso gassoso così prodotto viene intercettato in un dispositivo (tipicamente uno scrubber) che cattura l'ammoniaca presente, per contatto con una soluzione acida, in modo da produrre un sale di ammonio stabile. Si tratta di un processo che necessita di quantità notevoli di energia termica; la sua applicazione, quindi, non può prescindere dalla disponibilità di una fonte energetica a basso costo, come quella che potrebbe essere fornita da un impianto di digestione anaerobica, il cui biogas venga utilizzato per la produzione di energia elettrica e calore mediante cogenerazione.

Per le ragioni descritte precedentemente, la tecnica di rimozione per strippaggio dell'ammoniaca si inserisce bene in una linea di trattamento in cui è presente una sezione energetica che fornisce energia termica e, eventualmente, elettrica per il sostentamento della sezione di strippaggio.

In questa linea, l'azoto separato mediante strippaggio a caldo viene concentrato in una soluzione acquosa di sali di ammonio ed esportato in aree a bassa densità zootecnica per una sua utilizzazione agronomica, o ceduto all'industria dei fertilizzanti come arricchitore per prodotti poveri di azoto.

A monte del trattamento di strippaggio è presente un impianto di digestione anaerobica degli effluenti dell'allevamento, in grado di produrre energia elettrica e termica (attraverso cogenerazione) sufficiente al sostentamento del sistema di trattamento.

Nel caso di effluenti particolarmente poveri di sostanza organica sarebbe opportuno installare un addensatore (flottatore) per concentrarla in una frazione densa da avviare alla digestione; la frazione chiarificata sarebbe avviata al trattamento di strippaggio.

All'uscita dal processo di digestione anaerobica, soprattutto nel caso in cui vengano utilizzate colture dedicate per aumentare la produzione di biogas, conviene prevedere una separazione meccanica dei solidi sospesi nel digestato.

La frazione solida separata potrebbe quindi essere trattata mediante compostaggio in cumuli rivoltati meccanicamente o esportata direttamente al di fuori dell'ambito aziendale.

Il materiale, già di per sé compostabile, potrebbe essere reso più idoneo al processo con l'aggiunta e il mescolamento di residui ligneo-cellulosici. La miscela potrebbe, inoltre, essere arricchita con l'aggiunzione di solfato ammonico ottenuto nella fase di strippaggio.

La frazione liquida in uscita dal trattamento di strippaggio, invece, può essere impiegata per la fertirrigazione delle colture aziendali, nel rispetto delle norme tecniche per l'utilizzazione agronomica degli effluenti zootecnici. Con tale sistema di trattamento è possibile ridurre i surplus di nutrienti nell'area di produzione dei liquami, trasportando le due frazioni ottenute (solido separato, più o meno compostato, e solfato ammonico) verso altri terreni agricoli, posti anche a grande distanza e comunque a forte richiesta di sostanza organica per ripristinare la fertilità.

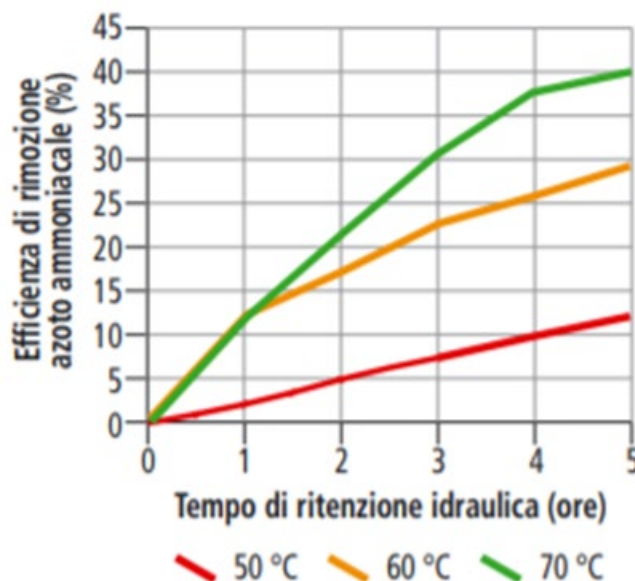


Figura 1.11 – Efficienze di stripping al variare delle temperature e dell'HRT. Adattato da Nejdet Değermenci & Ergun Yildiz (2021).

Per quanto riguarda l'efficienza della tecnica dello strippaggio sono particolarmente utili gli studi condotti dal CRPA di Reggio Emilia: con una ritenzione idraulica di 5 ore circa, le efficienze di rimozione sono risultate pari al 13% per il test a 50 °C, al 27% per quello a 60 °C e al 40% per il test a 70 °C.

A concentrazioni più elevate di azoto ammoniacale del liquame in ingresso è corrisposta una maggiore percentuale di azoto rimosso durante la prima ora di strippaggio.

Ciò consente di trarre utili indicazioni in termini gestionali e di previsione di efficienza di strippaggio: quanto più è alta la concentrazione di azoto ammoniacale nel liquame, tanto maggiore è la velocità iniziale di volatilizzazione e dunque l'efficienza di strippaggio.

L'efficienza del processo di strippaggio cresce inoltre all'aumentare della temperatura della massa di liquame.

Le prove condotte dal CRPA con il prototipo sperimentale hanno mostrato che la tecnica dello strippaggio dell'ammoniaca a elevate temperature (60-70 °C), applicata ai liquami suinicoli, costituisce un'interessante possibilità di riduzione dell'azoto, a condizione che i consumi energetici che la tecnica comporta possano essere sostenuti da una fonte di basso impegno economico per l'azienda, quale il biogas da digestione anaerobica.

La combinazione dello strippaggio alla digestione anaerobica permette infatti di utilizzare l'acqua calda prodotta dal cogeneratore per riscaldare la massa di liquame presente nello strippatore.

Questa sinergia tra impianti rende più applicabile la tesi con la temperatura di processo pari a 60 °C rispetto a quella a 70 °C, temperatura difficilmente raggiungibile con il recupero dell'acqua calda dell'impianto di cogenerazione. Temperature di processo inferiori a 60 °C non portano a efficienze di abbattimento significative.

Il processo di strippaggio ad alta temperatura tende a produrre schiuma, che può essere tenuta sotto controllo grazie ad appositi accorgimenti costruttivi, evitando così l'uso di additivi chimici antischiuma. È necessario sottolineare che per un'applicazione sostenibile della tecnica occorre che il materiale avviato alla digestione anaerobica (sia esso effluente di allevamento tal quale che effluente addizionato di altre matrici organiche) sia caratterizzato da un elevato carico organico. Solo in queste condizioni, infatti, la potenza termica ricavabile dall'utilizzazione del biogas prodotto può essere sufficiente per le esigenze del digestore anaerobico e dello strippatore.

Da ricordare infine che l'azoto liberato durante il processo di strippaggio viene catturato in una soluzione stabile di sale di ammonio.

Pur essendo assimilabile a un fertilizzante, questo prodotto non è facilmente commercializzabile perché non presenta tutte le caratteristiche qualitative di concentrazione e purezza costanti richieste dalla normativa sui fertilizzanti.

Come ulteriore beneficio, occorre ricordare che il liquame in uscita dal trattamento di strippaggio è caratterizzato da un tenore di azoto ammoniacale ridotto, che consente di limitare l'emissione di ammoniaca in ambiente dalle fasi gestionali successive (stoccaggio e distribuzione in campo).

Il processo di strippaggio, questo è sicuramente efficace (i rendimenti di rimozione dell'ammoniaca sono di 80-90 percento), tuttavia è costoso sia come investimento che come esercizio; si tratta di un vero e proprio impianto chimico e difficilmente nelle aziende agricole sono presenti le competenze tecniche necessarie per la sua gestione.

1.9 La digestione anaerobica

Un ruolo chiave nell'ambito dei trattamenti dei reflui zootecnici può essere svolto dalla digestione anaerobica, la cui finalità è quella di agire sul contenuto organico dei reflui al fine di ricavarne un vantaggio energetico.

È un processo di conversione di tipo biochimico in assenza di ossigeno e consiste nella demolizione, ad opera di microrganismi, di sostanze organiche complesse (lipidi, protidi, glucidi) contenute nei vegetali e nei sottoprodotti di origine animale, che produce un gas (biogas) costituito da metano e per la restante parte soprattutto da CO₂ ed avente un potere calorifico medio dell'ordine di 23 MJ/Nm³.

Tale processo si è diffuso molto anche a livello aziendale con la presenza sia di impianti semplificati, chiamati digestori, in cui le vasche di stoccaggio sono coperte con membrane di accumulo del gas, sia di reattori chiusi appositamente realizzati, operanti in mesofilia (30-35°C) o in termofilia (50-55°C).

In questi impianti la sostanza organica dei reflui viene degradata ad opera di microrganismi anaerobi, con la produzione di biogas, contenente in media dal 50 al 70% di metano e dal 25 al 40% di anidride carbonica, utilizzabile come combustibile.

Possono essere impiegati in un digestore anaerobico praticamente tutti i materiali organici,

i quali possono essere degradati in tempi diversi. Dal punto di vista chimico, per biomassa

si intendono quei materiali costituiti da materia organica non fossile, di origine biologica,

che può essere in parte sfruttata come risorsa energetica.

Si possono sinteticamente, considerare come biomassa:

- i rifiuti degli allevamenti zootecnici (deiezioni e scarti di macellazione)
- i rifiuti sia solidi che liquidi dell'attività urbana (frazione organica e fanghi di fogna)
- i residui organici delle industrie chimiche, della carta, del cuoio e tessili
- gli scarti delle attività agro-forestali (sfalci, potature, paglia, ramaglie, ecc.)
- gli scarti delle industrie di trasformazione (zuccherifici, frantoi, industrie lattiero-casearie,

- ecc.)
- le colture energetiche costituite da vegetali, coltivati con lo scopo di essere
- sottoposti a bioconversione

Il processo di digestione anaerobica può essere riassunto da quattro stadi:

- Idrolisi, dove le molecole organiche subiscono scissione in composti più semplici, quali i monosaccaridi, amminoacidi e acidi grassi;

- Acidogenesi, dove avviene l'ulteriore scissione in molecole ancora più semplici, come gli acidi grassi volatili (ad esempio acido acetico, propionico, butirrico e valerico), con produzione di ammoniaca, anidride carbonica e acido solfidrico;

- Acetogenesi, dove le molecole semplici prodotte nel precedente stadio sono ulteriormente digerite, producendo biossido di carbonio, idrogeno e principalmente acido acetico;

- Metanogenesi, con produzione di metano, biossido di carbonio ed acqua. Questo processo avviene grazie ai batteri metanogeni che sono anaerobi stretti; pertanto, la loro crescita è inibita sia da piccole quantità di ossigeno, sia da materiale fortemente ossidato (nitriti e nitrati).

Questi processi sono più lenti e più delicati, perché i microrganismi consentono velocità di degradazione della sostanza organica più basse di quelli aerobici.

In questo tipo di fermentazione i microrganismi metanogeni utilizzano come substrato i prodotti di quelli operanti nella prima fase di idrolisi e acidificazione. In tal modo si viene a creare un equilibrio poco stabile, poiché ciascuna specie ha particolari esigenze nutritive e velocità di crescita e trasformazione dei substrati. Inoltre, ogni specie microbica necessita di condizioni ambientali specifiche che non sempre corrispondono con quelle degli altri microrganismi; per questo motivo le condizioni interne del digestore devono essere tali da massimizzare la produzione di gas, cercando di rispettare questi equilibri.

Il raggiungimento delle condizioni ottimali per l'entrata a regime del digestore richiedono tempi relativamente lunghi e pertanto è auspicabile un loro mantenimento il più possibile costante dei batteri metanogeni dipende dalla temperatura; al di sotto dei 10°C l'attività è molto ridotta, mentre temperature superiori a 65°C provocano la morte delle cellule.

La temperatura ottimale per velocizzare la produzione di gas, e quindi minimizzare i tempi di ritenzione, si attesta tra 35 e 55°C e deve essere mantenuta il più possibile costante perché brusche variazioni risultano dannose per i microrganismi.

Anche il valore di pH influenza la resa in biogas: esso dovrebbe essere compreso tra un minimo di 6.6-7.6 ed un massimo di 7.5-8.5, infatti, già a pH di 6.2 si osservano forti diminuzioni della produzione di biogas da parte dei batteri metanogeni.

Talvolta è necessario intervenire sul sistema tamponando con sostanze alcaline l'eccesso di acidi sintetizzati.

Oltre ad evitare l'emissione in atmosfera, la digestione anaerobica ha una serie di effetti sui reflui che ne migliorano la gestione agronomica rispetto ai substrati di partenza: il digestato in uscita è stabilizzato, è deodorizzato, presenta inattivazione dei semi delle piante infestanti, subisce un'igienizzazione dal punto di vista microbico specialmente se ottenuto in condizioni di termofilia, presenta minori problemi di fitotossicità, ha un contenuto ridotto di solidi sospesi e di solidi totali (minori problemi di intasamento, maggiore fluidità e rapidità di penetrazione nel terreno) e una più pronta assimilabilità dei nutrienti da parte delle colture. L'effluente del digestore anaerobico (digestato) può in alternativa essere stoccato in vasche apposite in attesa di essere sottoposto a separazione solido-liquido. Questa operazione consiste nella suddivisione del digestato in una frazione solida da avviare a compostaggio o alle industrie produttrici di concimi ed in una frazione liquida "chiarificata" con valore fertilizzante, che può in alternativa essere destinata allo smaltimento in depuratore.

Non si tratta di un processo di riduzione dei volumi né dell'azoto; l'azoto in ingresso si ritrova tutto nel materiale in uscita, a prescindere da una piccola quota (1-2%) di azoto ammoniacale che può passare nel biogas, subendo una parziale mineralizzazione dell'azoto organico ad azoto inorganico ammoniacale, che è appunto più prontamente assimilabile (ma anche più facilmente disperso in ambiente).

Il materiale fermentato, pertanto, risulta essere un fertilizzante migliore grazie al cambiamento della forma chimica dell'azoto presente.

Il digestato può anche essere sottoposto ad un processo di allontanamento dell'azoto ammoniacale (strippaggio) in appositi impianti che consentono il recupero di solfato di ammonio minerale.

L'importanza della digestione anaerobica nei riguardi della gestione dell'azoto è fondamentalmente energetica ed economica, in quanto l'energia elettrica prodotta dalla combustione del biogas in azienda (sottoposta a incentivazione economica in quanto derivante da fonti rinnovabili) può essere utilizzata per i trattamenti oppure, se immessa nella rete elettrica, fornisce introiti che possono rendere la spesa per essi economicamente sostenibile, seppur chiaramente diminuendo il guadagno derivante dalla vendita dell'energia. Bisogna poi considerare il potenziale utilizzo dell'energia termica ottenuta dalla combustione del biogas in impianti di cogenerazione in misura superiore all'energia elettrica (dalla cogenerazione si ottengono circa il 55% di energia termica e circa il 35% di energia elettrica). Questa quantità rilevante di energia termica spesso fatica a trovare una valorizzazione all'interno dell'azienda, e potrebbe trovarla proprio in processi di tipo termico volti alla gestione dell'azoto. Le matrici usate nella codigestione non contengono inquinanti che pregiudichino l'uso agronomico del digestato, ma apportano azoto che va a sommarsi a quello zootecnico.

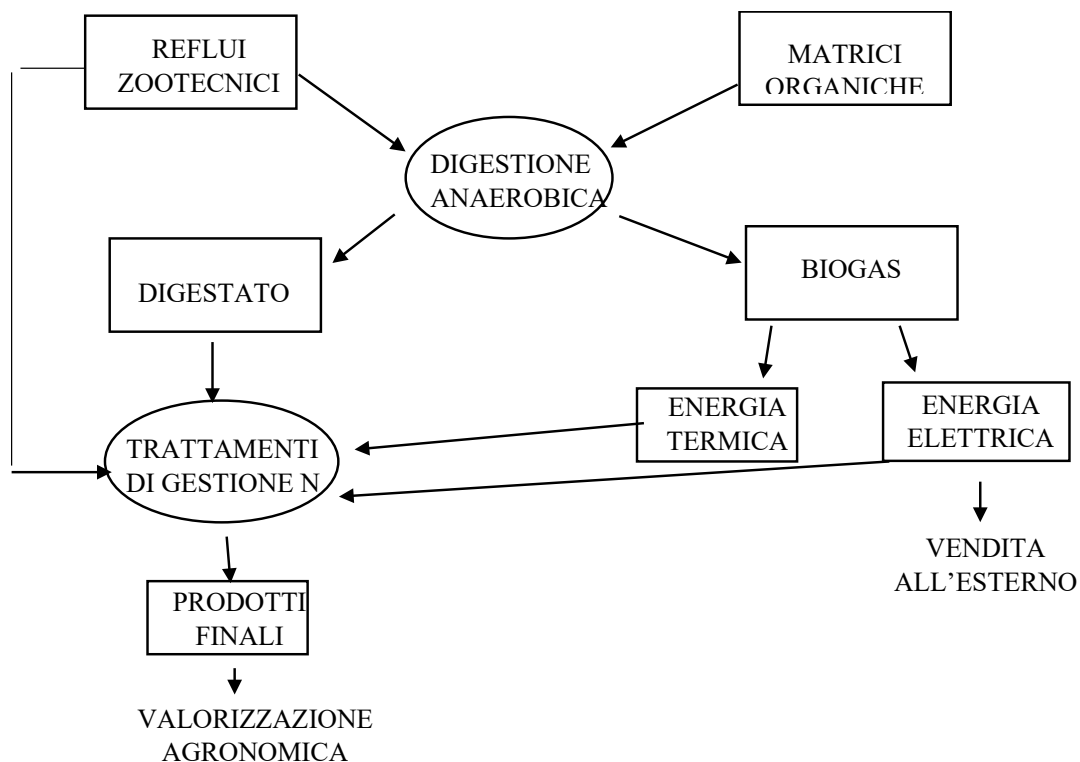


Figura 1.12 - Schema di inserimento della digestione anaerobica nel trattamento dei reflui zootecnici per la gestione dell'azoto. Adattato da Sakar et al. (2009).

Un aspetto fondamentale è rappresentato infine dal fatto che il materiale in uscita dal fermentatore è caratterizzato da emissioni minime di odore.

In conclusione, si osserva che la digestione anaerobica è caratterizzata da numerosi vantaggi:

- trasforma la sostanza di scarto in un prodotto finale in cui il carbonio contiene la
- maggior parte dell'energia iniziale del substrato
- origina un gas ad elevato potere calorifico
- provoca una riduzione dei microrganismi patogeni, in particolare se la digestione
- avviene in condizioni di termofilia
- abbatte gli odori
- richiede una energia limitata di processo, in parte fornita dalla radiazione solare
- riduce il volume dei fanghi da smaltire rispetto ad altri processi di degradazione
- consente l'utilizzo dei fanghi digeriti per il condizionamento del suolo
- migliorandone consistenza, capacità di trattenere umidità, aerazione, capacità
- tamponante
- costituisce una fonte di disinquinamento e una sorgente di energia
- supplementare e
- facilmente utilizzabile

- consente di ottenere un digestato sostanzialmente sterile e ricco di sostanze azotate,
- adatto come ammendante per l'agricoltura.

L'impiego sempre più diffuso degli impianti di digestione anaerobica non risolve però il problema dello smaltimento dei reflui zootecnici: questi impianti trasformano buona parte del carbonio organico in biogas, ma non eliminano l'azoto che si trova nel digestato.

L'unico vantaggio che se ne può trarre è solo in termini di energia che può essere impiegata per trattamenti volti alla rimozione dell'azoto.

Le difficoltà di utilizzo del digestato, dovute soprattutto al suo contenuto di azoto ammoniacale, stanno attualmente frenando lo sviluppo della digestione anaerobica nel comparto zootecnico.

1.10 Fitodepurazione

In Italia l'entrata in vigore del D.Lgs. 152/99 ha stabilito che “per tutti gli insediamenti con popolazione compresa tra 50 e 2.000 abitanti equivalenti, si ritiene auspicabile il ricorso a tecnologie di depurazione naturale quali il lagunaggio o la fitodepurazione”, che utilizza i vegetali come filtri biologici attivi in grado di ridurre gli inquinanti in esse presenti.

Questa pratica è quindi particolarmente indicata, oltre che per reflui domestici nelle quantità indicate, anche per le attività agricole e zootecniche, nelle quali lo scarico è caratterizzato da matrice organica.

I trattamenti di fitodepurazione sono trattamenti biologici avanzati, che necessitano di un trattamento primario di sedimentazione, quale una fossa Imhoff e/o terziari, di affinamento, che sfruttano la capacità di autodepurazione degli ambienti acquatici per abbattere in misura consistente i carichi inquinanti.

Parlando di fitodepurazione ci si riferisce in primo luogo alle zone umide artificiali (constructed wetlands), che riproducono, in situazioni controllate, processi caratteristici delle zone umide naturali.

Si tratta in sostanza di creare un sistema di filtraggio naturale, in cui il suolo è mantenuto costantemente saturo d'acqua (Moroni et al., 1996) e consiste in un bacino poco profondo, impermeabilizzato e riempito con un idoneo substrato e vegetato con piante acquatiche in cui entrano in gioco fenomeni differenti: le piante assorbono N per produrre biomassa, ma il ruolo principale è di fatto svolto dai batteri nitrificanti e denitrificanti, ai quali le radici vegetali e il substrato poroso in cui si sviluppano offrono supporto fisico; inoltre le piante forniscono ossigeno per i microrganismi aerobici e C organico per la denitrificazione e si verifica poi un fenomeno di adsorbimento di N sul substrato poroso.

Questa tecnologia è ormai consolidata nel trattamento di reflui civili; sta venendo esportata nel settore zootecnico, dove può essere adatta per acque reflue dalle sale di mungitura, ma non può essere applicata su liquami animali tal quali, visto che questi contengono quantità eccessive di solidi sospesi, che intaserebbero la porosità, un carico organico troppo alto (circa 6 volte superiore al BOD massimo ammissibile di 5000 mg/L) e una concentrazione troppo alta di N (10-50 volte superiore al limite massimo di 100 mg/L) .

Del resto, l'efficienza di rimozione dell'azoto tende a scendere all'aumentare della sua concentrazione.

Le essenze utilizzate devono avere una buona resistenza a carichi organici elevati, un tasso di crescita elevato, un apparato radicale ampio che offra una vasta superficie di contatto ai microrganismi. La vegetazione può essere sfalciata o meno, dunque asportando o meno l'azoto ivi contenuto.

Grandi vantaggi di questa tecnica sono il minimo impatto ambientale, i modesti consumi energetici, l'assenza di odori e rumori.

Il sistema, d'altra parte, richiede una gestione corretta delle piante, temperature adeguate e soprattutto superfici non indifferenti.

Oltre alle zone umide artificiali si possono ricordare i bacini di lagunaggio con alghe in cui l'azoto viene largamente assorbito dalla biomassa vegetale.

Bibliografia

Teri Francesco, "Trattamenti fisici per la gestione dell'azoto contenuto negli effluenti da digestione anaerobica di reflui zootecnici.

L'Informatore Agrario, "Nuove strade per smaltire gli effluenti zootecnici", n.7/2005

L'informatore Agrario, "Separazione solido-liquido per gestire l'azoto e produrre energia", n.41/2012

Regione Campania, "Disciplina tecnica per l'utilizzazione dei liquami zootecnici"

Economic and Environmental Benefits of Biodiversity, Pimentel et al, Bioscience, 2007

Coldiretti, Responsabilità della zootecnia nell'inquinamento da nitrati e ipotesi di revisione delle zone vulnerabili, Giugno 2009

Maria Carmela Macrì, La zootecnia in Italia, CREA 2017

Gestione dei rifiuti e sottoprodotti agricoli: caso studio per la Regione Campania, Ismea, 2018

Winkler, "Rapporti ottimali dei nutrienti per il trattamento delle acque reflue"

V. Tamburino, Appunti di impianti idrici e gestione delle acque reflue, 2012

G. Barutta, Il processo ANAMMOX: una tecnica innovativa per la rimozione biologica dell'azoto, 2013

Henze M., Gujer W., Mino T., Matsuo T., Marais G.v.R. 1995. Activated Sludge Model N.2, IAWQ Scientific and Technical Report n. 3, pp. 520 – 528.

Henze M., Gujer W., Mino T., Matsuo T., Marais G.v.R., 2000

“Attuazione della direttiva 91/676/CEE del Consiglio relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole”, Sintesi delle relazioni trasmesse dagli Stati membri per il 2000, Commissione europea. www.europa.eu

Konrad Egli, Urs Fanger, Pedro J. J. Alvarez, Hansruedi Siegrist, Jan R., van der Meer, Alexander J. B., Zehnder 2001. Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. Archives of Microbiology 175: 198-207

Van de Graaf A.A., de Bruijn P., Robertson L.A., Jetten M.S.M., Kuenen J.G. 1997. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidizing microorganism in a fluidized bed reactor, Microbiology 143(7): 2415-2421.

Strous M., van Gerven E., Zheng P., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. 1997. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) process in different reactor configurations. Water Research 31(8): 1955-1962.

Sito internet: www.paques.nl

Strous M, Fuerst JA, Kramer EH, Logemann S, Muyzer G, van de Pas Schoonen KT, Webb R, Kuenen JG, Jetten MS, 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. Nature 400: 446–449.

P. Casarini, La fitodepurazione: una tecnologia di depurazione naturale, ARPA Lombardia

Guida tecnica per la progettazione e la gestione dei sistemi di fitodepurazione per il trattamento delle acque reflue urbane, Sistema Nazionale per la protezione Ambiente, 81/2012

Manuale di fitodepurazione, Comune di Reggio Emilia, 2002

Digestione anaerobica della frazione organica dei rifiuti solidi, APAT, 13/2005

G. Santamaria, digestione anaerobica per scopi energetici quali trasporto produzione di biometano da reflui, attraverso reattori di sostenibile e generazione distribuita di energia, Ispra e Università S. Anna, 2010

Filiere e Tecnologie di trattamento degli effluenti di allevamento, Regione Veneto, 2012

Vasche di equalizzazione a integrazione del sistema di depurazione dei reflui zootecnici nell'insediamento produttivo per l'allevamento di suini da carne in Comune di Isili (CA), studio preliminare ambientale, S. Onano

L'inquinamento da nitrati di origine agricola nelle acque interne in Italia, APAT, 50/2005

Tecnologie innovative per il trattamento dei liquami, CRPA, n.11-2007

Strippaggio, tecnica efficiente per l'abbattimento dell'azoto, L'informatore agrario, n.18/2008

CAPITOLO 2. PROCESSI BIOLOGICI PER LA PRODUZIONE DI BIOGAS E BIO- H₂

2.1 Introduzione

Con la crescente domanda di energia a livello mondiale, la produzione di biocarburanti ha attirato notevole attenzione come alternativa alle fonti energetiche basate sui combustibili fossili, spinta dalla necessità di soluzioni energetiche sostenibili e rinnovabili. La produzione di biocarburanti dagli scarti alimentari offre un approccio promettente alla gestione dei rifiuti. La gestione degli scarti alimentari è considerata un problema sociale e ambientale cruciale. A livello globale, si stima che 1,3 miliardi di tonnellate/anno di cibo vengano inviate in discarica (compresi alimenti commestibili e non commestibili). L'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'alimentazione e l'agricoltura (FAO) ha stabilito che gli scarti alimentari producono da 3,5 a 4,2 miliardi di CO₂ equivalenti, una quantità simile alla classifica delle emissioni di un paese dopo Cina e Stati Uniti (Loizia et al., 2019). La produzione di biocarburanti utilizza questi scarti perché negli ultimi anni si sono affermati come una promettente fonte di combustibile alternativa. La complessità degli scarti alimentari deriva sia dalla varietà dei suoi componenti che dalla materia organica. Esempi di scarti alimentari includono resti di frutta e verdura, scarti domestici e di ristoranti, avanzi di birrerie e scarti lattiero-caseari. I rifiuti alimentari freschi non presentano necessariamente composizioni coerenti a causa delle differenze di area geografica, stagionalità, metodi di preparazione degli alimenti e abitudini di consumo. I principali componenti organici di questi rifiuti sono proteine, polimeri di carboidrati come amido, cellulosa, emicellulosa, lignina, lipidi e acidi organici (Pramanik et al., 2019), con una caratterizzazione di elevato contenuto di solidi totali (circa l'88% dei solidi totali (TS)), adeguato contenuto di umidità (circa il 77% del peso umido (w.w.)), un rapporto carbonio/azoto (C/N) bilanciato di 18,5 e un elevato contenuto di carboidrati

e proteine (rispettivamente 36% di solidi totali e 21% di solidi totali) (Fisgativa et al., 2017).

Un approccio promettente per l'utilizzo di scarti alimentari (FW) per la produzione di gas rinnovabile attraverso reattori a biofilm è sempre più utilizzato nella ricerca recente, in quanto offre diversi vantaggi rispetto ai reattori convenzionali (Woolard, 1997; Yeshanew et al., 2018). La produzione di biofilm è un meccanismo chiave nel processo biologico che consente ai microbi di crescere e formare comunità più complesse. Ad esempio, i consorzi multispecie presentano un'organizzazione spaziale e una cooperazione metabolica, nonché una migliore resistenza allo stress ambientale (Maurya et al., 2023). Questo processo differisce dalla crescita degli organismi planctonici nel loro ambiente perché adotta un'ampia gamma di metodi di sviluppo (Ahmad et al., 2011).

(Kastner et al., 2012) hanno studiato l'ottimizzazione della produzione di biogas da FW, il tipo di reattore e le condizioni operative del reattore. Sono state testate due configurazioni di reattore con processo di digestione anaerobica. Sono stati utilizzati un reattore continuo (CSTR) e un reattore a letto fluido (FBR). Il CSTR ha prodotto 670 NL/kg di VS e il FBR 550 NL/kg di VS. Le produttività del biogas per il CSTR e il FBR sono state rispettivamente di 3,9 NL/(L.d) e 3,4 NL/(L.d). In entrambi i casi, il biogas è stato prodotto con un contenuto medio di metano di circa il 60%. Sebbene entrambi i reattori abbiano mostrato un'efficace produzione di biogas, il FBR ha dimostrato una migliore rimozione della domanda chimica di ossigeno (COD) e una maggiore stabilità del processo, indicando che potrebbe fornire una soluzione più stabile a lungo termine. (Liu et al., 2022) hanno riscontrato che i tassi di conversione del metano erano compresi tra il 74 e l'87% utilizzando un reattore a letto di fango granulare espanso per il trattamento dei fanghi a letto di fango. Analogamente, le efficienze di rimozione di un digestore anaerobico a biofilm su scala pilota utilizzato da (Mohmed Moffit et al., 2025). erano elevati: 81,62% per TS, 83,62% per VS e 91,68% per COD. Al contrario, (Hu et al., 2022) hanno identificato tassi di rimozione costanti di circa l'85% per COD e circa il 77% per VS in un CSTR mesofilo a un ORL di 7,41 g COD/L·d. (Lutze ed Engelhart, 2020) hanno osservato che la degradazione del COD e la stabilità del processo ottenute da un reattore anaerobico a letto mobile (AnMBR) erano simili a quelle del CSTR, che operava allo stesso tempo di ritenzione dei solidi (SRT), ma l'AnMBR può gestire un ORL più elevato e fornire maggiore stabilità allo stesso tempo di ritenzione idraulica (HRT) consentendo un SRT più lungo. I reattori a biofilm supereranno sempre i CSTR in termini di resa di BioH₂ grazie all'elevata efficienza di ritenzione della biomassa e al basso dilavamento delle

biomasse, fornendo rese di 2,43–2,56 L H₂/L. d rispetto ai CSTR (ovvero 0,95–0,97 L H₂/L. d), un miglioramento di 2,6 volte dimostrato nel lavoro di (Lee et al., 2009). Secondo (A Aziz et al., 2020), un CSTR con un HRT di 5 giorni ha prodotto 320 mL di CH₄/g di COD, in cui il 94% di COD viene rimosso dall'effluente acidificato del frantoio per olio di palma. Nel frattempo, utilizzando un reattore anaerobico a flusso ascendente (UASB), sono stati prodotti 315 mL di CH₄/g di COD per una resa di metano con rimozione del 95% di COD utilizzando un HRT di 6 giorni. I reattori a biofilm sono tecnicamente superiori per la produzione di BioH₂, ma la loro implementazione richiede una progettazione attenta e ulteriori indagini su materiali a basso costo e modelli ibridi (Zinatizadeh et al., 2017).

Dal punto di vista economico, i reattori a biofilm richiedono un investimento maggiore a causa dei materiali di supporto utilizzati, ma presentano un vantaggio in termini di minori consumi energetici e ingombri, con una possibile riduzione dello spazio occupato del 30-50% (Osman e Hodaifa, 2023). Tuttavia, questi reattori presentano anche delle sfide, come l'intasamento nelle configurazioni a letto fisso, un controllo di processo complesso e una flessibilità limitata nel cambiare le materie prime (Perna et al., 2013). D'altra parte, i CSTR sono più facili da gestire, più flessibili con materie prime variabili e più adatti a progetti con budget limitati, mentre la loro efficienza è inferiore e l'energia operativa maggiore (Prasanna Kumar et al., 2024). Per applicazioni a basso costo/su piccola scala, i CSTR rappresentano ancora un valido punto di partenza, ma per i rifiuti ad alta resistenza, si raccomandano i reattori a biofilm a letto fluido (Jaafari et al., 2014).

Come funzionano quindi i reattori a biofilm? Nel reattore a biofilm, la formazione del biofilm può avvenire in diverse condizioni, ma generalmente richiede una superficie umida, artificiale, naturale o vivente. I biofilm benefici sono presenti in una varietà di habitat, come sistemi di trattamento delle acque, fiumi, piccoli corsi d'acqua e l'apparato digerente dei mammiferi (Saini et al., 2023). Un insieme di cellule costituisce la base fondamentale di questo sistema di biofilm, collegate tra loro da una matrice extracellulare gelatinosa, creando una comunità coesa; questa matrice, nota come "matrice del biofilm", costituisce una barriera difensiva contro i cambiamenti ambientali, i biocidi e gli antibiotici. In aree specializzate chiamate "micronicchie", funge anche da microambiente per le cellule batteriche del biofilm, catturando e concentrando nutrienti essenziali come carbonio, fosforo e azoto (Ahmad et al., 2011).

La crescita e lo sviluppo dei biofilm seguono diverse fasi. Inizialmente, i batteri planctonici utilizzano forze elettrostatiche e di van der Waals per aderire al substrato. (Saini et al., 2023). Successivamente, utilizzano l'idrogeno o forze ioniche per

rafforzare la loro adesione. La formazione del biofilm inizia con l'adesione dei batteri a una superficie umida e non sterilizzata e termina con la separazione. La struttura tridimensionale del biofilm cresce durante questo processo, formando microcolonie composte da singole o numerose cellule batteriche organizzate in formazioni lisce, ruvide, filamentose, a forma di fungo o soffici con cavità piene d'acqua. Gli EPS vengono prodotti in quantità di microcolonie basate sul numero di batteri presenti, con microcolonie che contengono tipicamente tra il 75 e il 90% di EPS, mentre la parte rimanente è costituita da cellule batteriche. La Fig. 2.1 descrive ogni fase della crescita del biofilm (Saini et al., 2023).

Recentemente, i sistemi a biofilm si sono rivelati utili in vari campi, come il trattamento delle acque reflue, la produzione di energia e la rimozione di inquinanti tossici. Inoltre, i biofilm consentono di produrre diversi prodotti di valore, come biocarburanti, acidi organici, antibiotici, polisaccaridi, enzimi e vitamine (Germec et al., 2020). Nei reattori a biofilm, in cui i microrganismi formano una comunità strutturata attaccata a una superficie solida, si forma un'elevata concentrazione di biomassa, garantendo un elevato potenziale di produzione di prodotti ad alto valore aggiunto, con produttività garantita. Questi reattori hanno quindi dimostrato la loro efficacia grazie ai diversi meccanismi responsabili del miglioramento delle prestazioni dei reattori a biofilm per la produzione di biogas e bioidrogeno. I biofilm facilitano l'efficiente conversione delle materie prime in biogas e bioidrogeno ottimizzando il trasferimento di massa di nutrienti e metaboliti all'interno della comunità microbica (Quiroz-Pérez et al., 2019). Inoltre, l'immobilizzazione dei microrganismi all'interno della matrice del biofilm può contribuire a una migliore ritenzione cellulare, a maggiori concentrazioni di biomassa e a una maggiore produttività rispetto ai sistemi con celle in sospensione (Fung Min Liew, 2016).

Nel processo di digestione anaerobica (DA), i reattori a biofilm possono essere utilizzati sia per acque reflue a basso contenuto di solidi, come gli effluenti domestici e municipali, sia per flussi ad alto contenuto di solidi, tra cui letame animale e rifiuti solidi urbani (Jain, 2018), rifiuti alimentari (Alvarado-Vallejo et al., 2024) e percolato (Chelliapan et al., 2020). Il biogas prodotto in tali bioreattori (Fig. 2.2) è tipicamente composto dal 70 al 90% di metano, dal 3 al 15% di anidride carbonica e fino al 15% di azoto (Osman e Hodaifa, 2023). Questo biogas può essere utilizzato per riscaldare il digestore, produrre elettricità o essere riutilizzato per la produzione di combustibile. Secondo (Lou et al., 2013), la digestione anaerobica di tutti i rifiuti solidi urbani prodotti in varie località australiane può produrre 558.453 dam³ di CH₄, che si traducono in 20,3 PJ di potenziale termico o 1.915 GWe di produzione di elettricità

all'anno. Studi hanno dimostrato che un AnMBR che tratta acque reflue sintetiche può generare fino a 2,02 kWh per kg di COD rimosso, ovvero sette volte l'energia necessaria per il funzionamento del digestore.

Bio-H₂ e Bio-CH₄ sono due fonti di energia rinnovabili, ma il Bio-H₂ si distingue per l'elevata ricaricabilità e le favorevoli caratteristiche di combustione (Parthiba Karthikeyan et al., 2018). Sebbene esistano numerose forme di produzione di H₂ come fonte energetica (Costa et al., 2025), l'utilizzo dei flussi di rifiuti presenta notevoli problematiche in termini di rischi per i costi di produzione, riduzione dell'impronta di carbonio e valorizzazione dei rifiuti. La foto fermentazione e la DF sono alcuni dei metodi di produzione di BioH₂ più comuni. La foto fermentazione è un processo dipendente dalla luce; nella fermentazione, non vi è alcuna richiesta di luce; quindi, è flessibile nella progettazione e nella configurazione del reattore. Inoltre, in assenza di luce, i microrganismi fermentativi possono produrre acidi organici e alcoli che possono poi essere valorizzati come fonte di energia (Akca et al., 2021).

Oggigiorno, l'idrogeno gassoso (H₂) rappresenta un'alternativa promettente ai combustibili fossili, in quanto offre la possibilità di generare un vettore energetico prezioso, rinnovabile e a zero emissioni di carbonio (Barca et al., 2015). L'utilizzo di reattori anaerobici a biofilm per la produzione di questo tipo di gas è sempre più incoraggiato, visti i risultati promettenti (Barca et al., 2015; Muñoz-Páez et al., 2013). Sebbene i reattori a biofilm offrano vantaggi promettenti, ci sono anche considerazioni pratiche che devono essere prese in considerazione per la loro adozione nel settore della produzione di biocarburanti. L'aumento di scala e la progettazione dei reattori a biofilm possono essere piuttosto impegnativi, richiedendo un'attenta ottimizzazione di parametri quali l'idrodinamica, l'apporto di nutrienti e il distacco del biofilm (Quiroz-Pérez et al., 2019). Inoltre, la complessità della formazione del biofilm e l'eterogeneità della comunità microbica possono comportare sfide operative, come il mantenimento di prestazioni stabili e riproducibili del reattore (Hossain et al., 2017).

Sebbene siano disponibili numerosi studi sui sistemi di reattori anaerobici a biofilm per affrontare queste sfide, la ricerca in corso si concentra recentemente sui progressi della modellazione avanzata e su vari metodi di controllo per questo tipo di reattore, oltre allo studio di nuovi ceppi microbici e consorzi che possono migliorare ulteriormente la produzione di biogas e bioidrogeno, le rese e l'economia di processo (Ghag et al., 2019; Zuorro et al., 2021).

Sono stati pubblicati diversi articoli sul trattamento delle acque reflue civili e industriali mediante reattori a biofilm (Barca et al., 2015; Biase, 2016; Guo et al., 2012; Henze e Harremoes, 1983; Murshid et al., 2023; Saidulu et al., 2021; Woolard, 1997).

Tuttavia, non è stata trovata alcuna pubblicazione che esaminasse il trattamento dei rifiuti alimentari mediante diverse tipologie di reattori anaerobici a biofilm. Questo capitolo fornisce ai ricercatori nel campo della produzione di Bio-CH₄ e Bio-H₂ tramite fermentazione anaerobica elementi chiave sulle diverse tipologie di reattori anaerobici a biofilm; l'obiettivo di questo capitolo è fornire una panoramica concisa dei reattori a biofilm, concentrandosi sui processi operativi, sulle applicazioni a membrana e sulle tecnologie integrate. Inoltre, si concentra sull'applicazione di queste tecnologie al trattamento dei rifiuti alimentari, evidenziandone vantaggi e limiti e identificando potenziali aree di ricerca e sviluppo future.

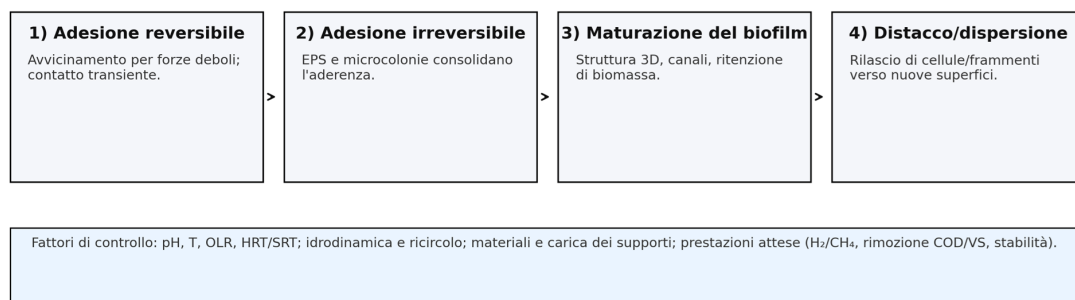
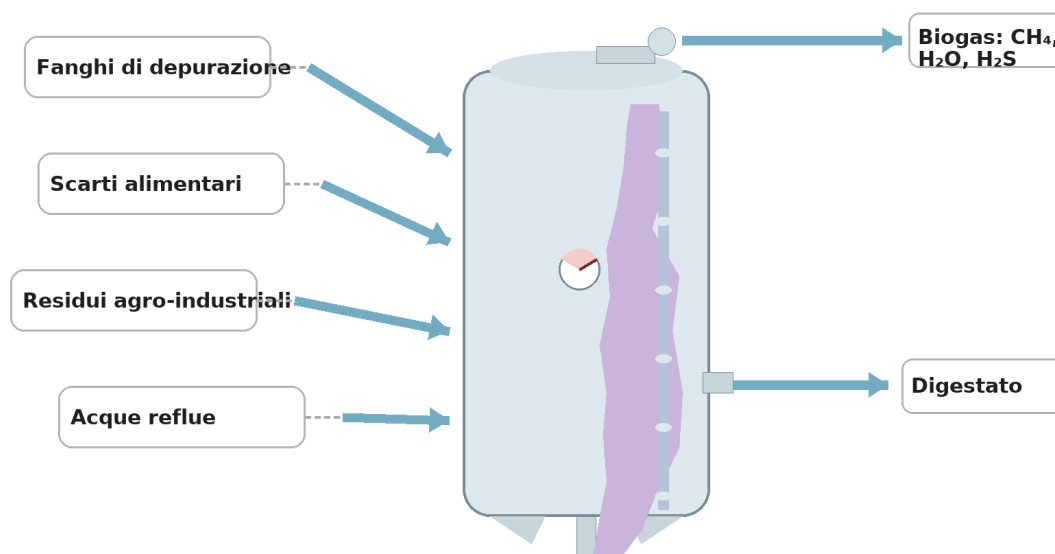


Figura 2.13 – Il ciclo vitale del biofilm. Adattato da Barraud (2007).

La formazione del biofilm è un processo multistadio che prevede (i) l'adesione reversibile delle cellule a una superficie, (ii) la secrezione di adesine ed EPS che determinano l'adesione irreversibile del biofilm e l'inizio della proliferazione cellulare, (iii) la maturazione del biofilm e la formazione di microcolonie e (iv) la morte cellulare nelle microcolonie e la dispersione delle singole cellule che ritornano alla fase planctonica (Saini et al., 2023).

2.2 Fermentazione anaerobica

Biogas e Bio-H₂ sono due promettenti fonti di energia rinnovabile che hanno recentemente attirato notevole attenzione per il loro potenziale e la loro capacità di ridurre l'impatto dei combustibili fossili sull'ambiente e di fornire soluzioni energetiche sostenibili. Il biogas, composto principalmente da CH₄ e CO₂, è prodotto dalla digestione anaerobica di materiali organici, tra cui rifiuti solidi urbani, rifiuti agricoli ed effluenti industriali (Ahuja et al., 2023).



Reattore di digestione anaerobica

Figura 2.14 – Risorse di scarto per la fermentazione anaerobica e i suoi prodotti gassosi (ad esempio biogas, idrogeno, idrogenosolfato) e biosolidi (digestato). Adattato da Ur Rehman et al. (2019).

La produzione di biogas comporta processi biologici complessi che sono influenzati da vari fattori, come la composizione delle materie prime, la fonte dell'inoculo, il design del reattore e le condizioni operative. Nella produzione di biogas, il processo di AD prevede diverse fasi (Fig. 2.3). La prima fase (idrolisi, detta anche solubilizzazione) scompone i costituenti ad alto peso molecolare in sostanze organiche solubili più piccole mediante esoenzimi ed è rappresentata dalla reazione (Eq. 2.1 – 2.3). Le fluttuazioni ambientali e le tossine presenti nella materia prima non costituiscono un ostacolo per i microrganismi idrolitici, poiché questi ultimi sono in grado di resistervi con forza (Raj et al., 2022).

Spesso si ritiene che le condizioni ottimali per l'idrolisi si verifichino in un intervallo di pH compreso tra 6 e 8 (Van et al., 2019).

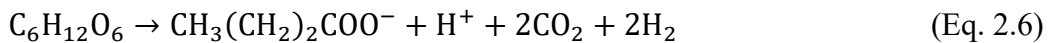


Nei reattori anaerobici a biofilm, la fase di idrolisi che utilizza FW è complessa a causa della natura stessa del FW, che è difficile da idrolizzare. Per superare questa difficoltà, l'applicazione di biofilm multispecie ha dato risultati incoraggianti nel

potenziare la fase iniziale dell'AD, ovvero l'idrolisi. Il successo della degradazione dell'FW è reso possibile dalla complementarità della diversità metabolica e funzionale all'interno dei biofilm multispecie. (Abera et al., 2024) hanno affermato che la combinazione di funghi che degradano la cellulosa come il *Trichoderma reesei* e batteri che formano biofilm come il *Clostridium thermocellum* favorisce lo sviluppo di un maggior numero di enzimi e la scomposizione della cellulosa e dello xilene in ambienti anaerobici e microanaerobici. Ad esempio, in un reattore a biofilm multispecie, la ricerca di (Xiros et al., 2019) ha dimostrato un miglioramento dell'idrolisi della cellulosa attraverso la co-coltivazione di un biofilm fungino che degrada la cellulosa con un gruppo di batteri ruminanti. Grazie a questa sinergia, la sintesi di acidi grassi a catena corta è stata superiore del 39% rispetto a quando il microbioma ruminale operava da solo. È stato dimostrato che l'uso di biofilm per la digestione anaerobica può migliorare l'idrolisi dei rifiuti concentrati (Abera et al., 2024).

La seconda fase dell'AD è l'acidogenesi, che trasforma i prodotti idrolitici in VFA come l'acido propionico, l'acido butirrico, l'acido acetico e l'etanolo grazie all'azione dei batteri acidogenici. L'acidogenesi è rappresentata dall'Eq. 2.4-2.7. Le condizioni di pH influenzano in modo significativo i prodotti VFA.

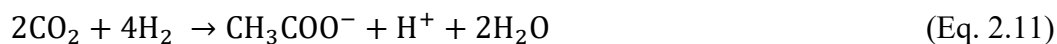
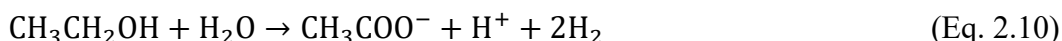
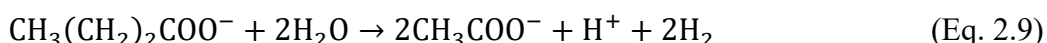
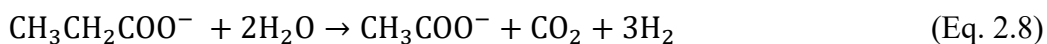
L'acidogenesi è rappresentata dall'equazione 4-7. Le condizioni del pH influenzano in modo significativo i prodotti VFA. L'intervallo compreso tra 5,5 e 6,5 è stato spesso indicato come l'intervallo ottimale (Van et al., 2019):



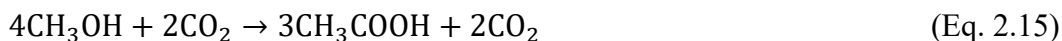
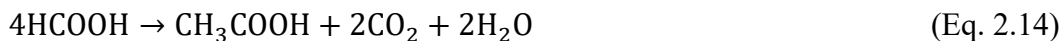
Per quanto riguarda la seconda fase dell'AD, alcuni studi hanno dimostrato che quando è stato utilizzato un sistema integrato a film galleggiante e fanghi attivi con un mezzo composito a base di ferro zero-valente per trattare le acque reflue lattiero-casearie mediante AD, (Shi et al., 2022) hanno riscontrato un aumento del livello di acidità di circa il 52%, con un miglioramento del 9,5% rispetto ai reattori senza mezzi biofilm. Allo stesso modo, (Shi et al., 2023) hanno dimostrato che il biofilm anaerobico combinato con il pretrattamento termico alcalino può migliorare l'idrolisi dei fanghi a basso contenuto di materia organica e ad alto contenuto di solidi, superando l'efficienza della biomassa lignocellulosica. In questo caso, i processi di

acidogenesi e idrolisi sono stati potenziati dall'aumento della popolazione di microrganismi fermentativi nel biofilm.

L'acetogenesi è la terza fase, in cui la maggior parte dei prodotti dell'acidogenesi vengono trasformati in acido acetico (CH_3COOH), idrogeno (H_2) e anidride carbonica (CO_2), come dimostrato nelle equazioni 8-11 (Van et al., 2019). Gli acetogeni sono microrganismi strettamente anaerobici, il che significa che la presenza di ossidanti come l'ossigeno o i nitrati è tossica per loro [26]. Essi prosperano al meglio in ambienti leggermente acidi, con un intervallo di pH ottimale compreso tra 6,0 e 6,2 circa (Stronach et al., 1986).



In questa fase avviene anche l'omoacetogenesi, che produce acetato utilizzando CO_2 e substrati organici come formiato e metanolo come fonti di carbonio per formare acetato come prodotto finale Eq. 12-15 (Samir Kumar Khanal, 2008).



L'ultimo passaggio è la metanogenesi, che è la fase più cruciale nella generazione del gas metano. La metanogenesi acetoclastica e idrogenotrofica sono i due processi fondamentali della produzione di metano. In primo luogo, l'acido acetico viene fermentato dai batteri autotrofi in CH_4 e CO_2 come da Eq. 16. Quindi, CO_2 e H_2 vengono utilizzati dai metanogeni idrogenotrofi come fonte di nutrimento, come mostrato in Eq. 17. In generale, i metanogeni sono molto sensibili a diversi fattori come il pH, l' O_2 e altri fattori quali l'ammoniaca libera, l'idrogeno solforato (H_2S) e gli acidi grassi volatili (VFA). Non possono funzionare a un pH inferiore a 6,2 e muoiono anche a un pH inferiore a 6,0 (Laiq Ur Rehman et al., 2019; Stronach et al., 1986; Van et al., 2019), e il rilascio di ammoniaca libera può essere inibito quando il valore del pH è superiore a $> 7,8$. Il valore ottimale del pH è stato spesso riportato in un ambiente neutro (da 7,0 a 7,2) (Van et al., 2019). Per ovviare a tutto ciò, la presenza di biofilm all'interno dei reattori AD attenua questi effetti offrendo una protezione fisica e chimica alla comunità, aumentando la resistenza rinforzata dal biofilm e

sostenendo il funzionamento del reattore tramite sostanze polimeriche extracellulari e la diversità del biofilm (Abera et al., 2024).

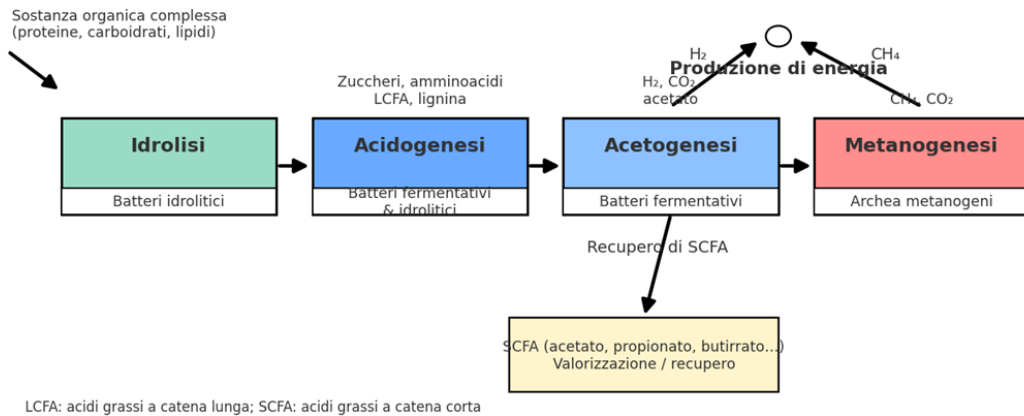
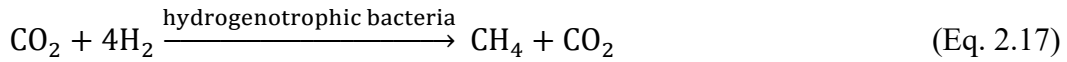
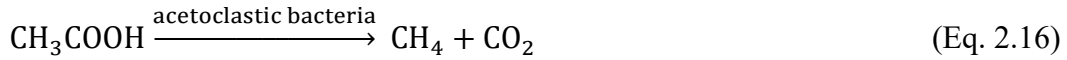


Figura 2.3 – Fasi del processo di digestione anaerobica. Adattato da Uddin e Wright (2022).

È importante notare che la gestione di un ampio flusso di rifiuti organici, la ridotta attività dovuta all'ammoniaca, la produzione di sostanze chimiche pericolose, l'attenzione agli acidi grassi volatili (VFA) e la ridotta stabilità sono alcune delle sfide associate alla digestione anaerobica a stadio singolo di FW. I ricercatori hanno sviluppato il concetto di digestione anaerobica a due stadi (TSAD) a causa delle chiare differenze tra acidogenesi e metanogenesi. Mentre i sistemi a stadio singolo possono funzionare lentamente, il sistema TSAD separa le fasi idrolitico-acidogena e metanogena. La TSAD migliora la stabilità del processo e genera due gas contemporaneamente (ovvero BioH₂ e BioCH₂), trattando carichi ad alto contenuto di materia organica (Srisowmeya et al., 2020).

Tra i principali vantaggi della produzione di biogas vi è la sua capacità di convertire i rifiuti organici in una fonte di energia e contemporaneamente ridurre l'inquinamento ambientale. Gli sforzi di ricerca in questo campo si sono concentrati sull'aumento della scalabilità e dell'efficienza dei processi di produzione di biogas e Bio-H₂, esplorando nuove fonti di materie prime e integrando queste tecnologie con altri sistemi energetici. Tra i principali utilizzi del biogas vi è il suo utilizzo come fonte di produzione di energia, sia tramite combustione diretta che tramite celle a combustibile (Ullah Khan et al., 2017). Il biogas, principalmente metano, è in grado di generare sia elettricità che calore mediante purificazione e immissione in condotte composte quasi al 100% da

Bio-CH₄ (Jingura e Kamusoko, 2017). Inoltre, può essere valorizzato e sostituito dai combustibili fossili. Inoltre, durante il processo di digestione anaerobica vengono prodotti sottoprodotti, come gli acidi grassi volatili (VFA), che possono produrre biocarburanti liquidi come butanolo ed etanolo (Fig. 2.3). Inoltre, altri composti del biogas (Mahmoodi-Eshkaftaki e Mockaitis, 2022), come H₂ e CO₂, rappresentano anche un percorso per la produzione aggiuntiva di Bio-CH₄ attraverso il percorso idrogenotrofico (Kurth et al., 2020), dove un archeobatterio strettamente anaerobico forma metano utilizzando questi due gas come fonte di energia. Tra i gas prodotti tramite digestione anaerobica c'è anche l'idrogeno solforato, nonostante la pericolosità di questo gas, la sua produzione tramite digestione anaerobica non supera le 5000 ppm (0,1 - 0,5%) (Bharathiraja et al., 2016).

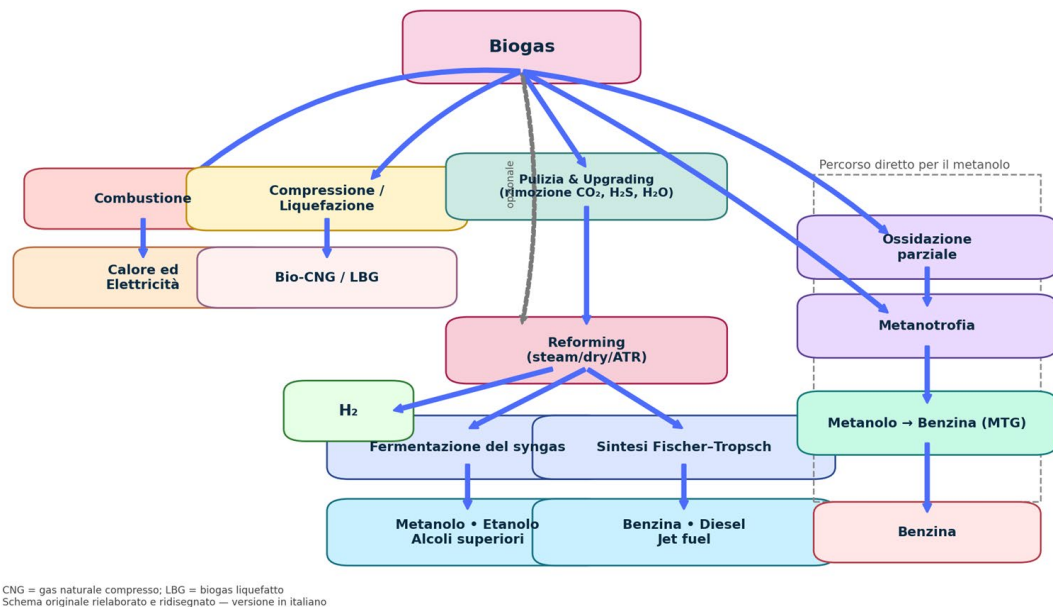


Figura 2.4 – Diagramma di flusso sui metodi di utilizzo del biogas. (Abera et al. 2024).

Il Bio-H₂ è considerato una fonte di energia pulita ed efficiente e un vettore che può essere utilizzato nelle celle a combustibile per generare elettricità o come sostituto dell'idrogeno tradizionale prodotto dai combustibili fossili. Tuttavia, prima di poter essere utilizzato nelle celle a combustibile, il Bio-H₂ richiede specifici pretrattamenti di purificazione per rimuovere impurità quali CO₂, H₂S e altri contaminanti, come l'adsorbimento a pressione alternata, la distillazione criogenica e la separazione a membrana, che potrebbero compromettere le prestazioni delle celle a combustibile (Onwuemezie e Gohari Darabkhani, 2024) (Fig. 2.4). Il Bio-H₂ è emerso negli ultimi anni come una promettente fonte di energia rinnovabile; infatti, l'H₂ ha il più alto contenuto energetico per unità di massa di tutti i combustibili conosciuti: 142 MJ/kg, rispetto al CH₄, che ha un contenuto energetico di 55 MJ/kg. La combustione dell'H₂

ha un solo sottoprodotto finale, ovvero l'acqua; quest'acqua può essere recuperata e riutilizzata e, pertanto, non vengono rilasciati gas serra (Martins et al., 2022). Il Bio-H₂ può essere prodotto attraverso una varietà di processi biologici (Fig. 2.5), tra cui DF, fotofermentazione, biofotolisi ed elettrolisi microbica (Fig. 2.5). Questi processi prevedono l'utilizzo di microrganismi, come alghe verdi, cianobatteri, batteri fotosintetici e batteri fermentativi, per generare Bio-H₂ (J.H. Reith, 2014).

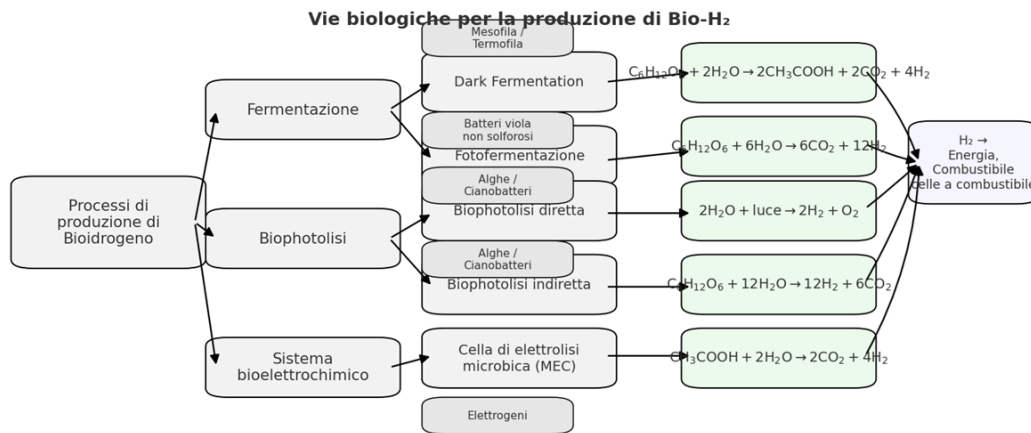


Figura 2.5 – Processi per la produzione di bioidrogeno. (Osman et al. 2020).

2.2.1 Biofotolisi

I cianobatteri e le alghe verdi utilizzano un processo chiamato biofotolisi per catturare la luce solare e scindere l'acqua per creare idrogeno (Javed et al., 2022). Questo processo si divide in due tipi: biofotolisi diretta e indiretta. La biofotolisi diretta è il processo in cui i microrganismi effettuano la fotosintesi, trasformando l'acqua in ossigeno e idrogeno con la luce solare e la CO₂, e utilizzando i loro due fotosistemi (PSI e PSII) per scindere l'acqua e generare energia (Pachaiappan et al., 2024). Sebbene gli enzimi idrogenasi e nitrogenasi siano responsabili della produzione di H₂, l'idrogenasi non è sicura se esposta a O₂, causando un grave problema nella produzione di H₂. Sono stati progettati diversi approcci per affrontare questo problema. Le strategie suggeriscono modifiche genetiche alle idrogenasi per una migliore tolleranza all'O₂, fissando gli enzimi in strumenti plastici o polimerici e basandosi su condizioni anaerobiche o microbi in grado di resistere all'O₂ (Pachaiappan et al., 2024). Al contrario, durante la biofotolisi indiretta, la generazione di ossigeno avviene più tardi rispetto alla generazione di idrogeno da parte del sistema. Quando la fotosintesi avviene in condizioni aerobiche, l'ossigeno viene rilasciato e si crea una riserva di carboidrati. Questa seconda fase è chiamata anaerobica perché l'organismo utilizza questi carboidrati come fonte, trasformandoli in H₂ e CO₂ (Srirangan et al., 2011).

Utilizzando questo metodo, l'inibizione delle idrogenasi diminuisce e diventa possibile una più ampia produzione di H_2 (Srirangan et al., 2011). Alcune forme di cianobatteri, tra cui *Anabaena variabilis*[36], contengono nitrogenasi che funziona indipendentemente dalla presenza di ossigeno; quindi, sono ideali per la produzione di H_2 nei sistemi di biofotolisi indiretta. Il metodo della biofotolisi è promettente per la produzione di $BioH_2$, ma è limitato dalla bassa efficienza di conversione, dalla necessità di determinate condizioni ambientali e dagli effetti sulla fotosintesi nell'organismo. Pertanto, nuovi studi hanno tentato di migliorare questo processo modificando geneticamente i microbi, rafforzando l'idrogenasi e creando migliori condizioni di coltura per aumentare la resa di bioidrogeno (Anwar et al., 2019). L'applicazione di questo processo in un reattore a biofilm non è sfruttata dai ricercatori, né per il trattamento di altri substrati ricchi di sostanza organica, come gli scarti alimentari, il che è molto raro, se non addirittura inesistente. Si raccomanda un'applicazione combinata o integrata con altri processi biologici per la produzione di biocarburanti.

2.2.2 Fotofermentazione

La foto fermentazione prevede la decomposizione di acidi organici utilizzando batteri viola dello zolfo e batteri non-zolfo dipendenti dalla luce (Fig. 2.5). I batteri viola non-zolfo (PNSB) sono un gruppo di batteri con la capacità di foto sintetizzare la materia organica; Questi microrganismi PNSB, spesso indicati come fotobatteri, sono un gruppo di batteri fotoeterotrofi in grado di produrre $Bio-H_2$ decomponendo una varietà di substrati carboniosi, tra cui carboidrati, materia organica, rifiuti biologici e acidi organici, per la produzione di H_2 (Shin e Park, 2013). Tra i parametri che influenzano la foto fermentazione vi è la variazione di temperatura; l'intervallo di temperatura ottimale è compreso tra 28 e 32 °C; per il pH, un valore di pH neutro (intorno a 7) nella maggior parte degli studi ha fornito la massima resa di $Bio-H_2$. I fattori molto importanti per il corretto funzionamento di questo processo sono l'intensità luminosa e l'HRT, che gioca un ruolo significativo nella resa di $Bio-H_2$. A causa della lenta attività metabolica dei PNSB durante la foto fermentazione, è possibile notare un HRT solitamente più lungo rispetto al DF (Osman et al., 2023). I principali svantaggi della foto fermentazione negli impianti pilota e su scala reale sono, tra gli altri, la bassa efficienza energetica complessiva, i lunghi tempi di ritenzione idraulica e la sensibilità a parametri ambientali come temperatura e pH, che richiedono un monitoraggio e un controllo costanti. La variabilità del substrato, l'accumulo di sottoprodotti e gli elevati costi operativi rappresentano ulteriori ostacoli. La dipendenza dalle fonti luminose e la complessità tecnica aumentano i costi di gestione,

rendendo questa tecnologia meno competitiva rispetto a soluzioni alternative (Ren et al., 2024). Per questi motivi, sono state sviluppate diverse strategie di ottimizzazione. L'ottimizzazione dell'HRT, ad esempio, migliora notevolmente l'efficienza del processo. Inoculanti specifici possono essere utilizzati per ridurre l'HRT, aumentando la resa complessiva di biogas e la produttività del sistema (Sivaranjani et al., 2023). Sistemi avanzati di monitoraggio e controllo, basati sull'intelligenza artificiale e su sensori in tempo reale, possono ottimizzare le condizioni operative per una migliore stabilità del processo, riducendo al contempo i costi operativi (Gurubel Tun et al., 2025). Ulteriori sviluppi potrebbero essere ottenuti integrando la foto fermentazione con altre tecnologie, come la foto fermentazione (DF) o l'elettrolisi microbica, per ottenere la massima produzione di idrogeno e rendere questo sistema più efficiente ed economicamente sostenibile (Mishra et al., 2019).

2.2.3 Elettrolisi microbica

Le celle di elettrolisi microbica rappresentano una promettente tecnologia bioelettrochimica per la produzione di bioidrogeno da vari substrati organici, tra cui scarti alimentari e acque reflue. Funzionano con due elettrodi, un anodo e un catodo, configurati come sistemi a camera singola o doppia (Osman et al., 2023). Nelle celle di elettrolisi microbica a doppia camera, membrane, come quelle a scambio protonico, a scambio cationico/anionico o bipolari, separano le due camere: la camera anodica contiene tipicamente l'effluente organico e la camera catodica contiene le varie soluzioni (Fig. 2.5). In entrambe le configurazioni, batteri elettro attivi come il *Bacillus subtilis* ossidano la materia organica all'anodo, generando elettroni e protoni. Questi vengono indirizzati al catodo, dove, utilizzando una bassa tensione esterna (tipicamente $>0,110$ V), l'idrogeno viene prodotto per riduzione protonica. Le celle di elettrolisi microbica richiedono pH neutro, temperatura ambiente e materiali economici. Nonostante la necessità di apporto energetico esterno, le MEC possono produrre H_2 ad elevata purezza in condizioni anaerobiche (Osman et al., 2023).

Secondo (Huang et al., 2020), l'utilizzo di DA con MEC consente una produzione di idrogeno molto più elevata, pari a 511,02 mL di H_2 /g di VS, rispetto al trattamento con sola DA, che ha prodotto solo 49,39 mL di H_2 /g di VS. Questi cambiamenti hanno portato a una migliore degradazione di carboidrati, proteine e acidi grassi volatili. Gli autori hanno inoltre rivelato che la MEC ha reso la produzione di DA e CH_4 da circa 1,7 a 4,0 volte più veloce nei sistemi AD-MEC.

La temperatura influenza notevolmente le MEC; i risultati indicano che questi sistemi funzionano bene fino a 0 °C e che i sistemi di trattamento delle acque reflue domestiche con un intervallo di temperatura compreso tra 13 e 21 °C producono

idrogeno in modo costante (Osman et al., 2023). Tuttavia, trovare un modo per utilizzare le MEC su scala industriale è difficile, poiché l'energia utilizzata durante il loro funzionamento è superiore a quella che può essere risparmiata attraverso la produzione di idrogeno, e a causa della necessità di materiali costosi (Saravanan et al., 2023). È importante gestire il biofilm sugli elettrodi perché un ridotto trasferimento di elettroni può ridurre la quantità di idrogeno generato.

Per risolvere questi problemi, la ricerca continua a migliorare le condizioni operative, a trovare materiali migliori e più convenienti per elettrodi e membrane e a combinare le MEC con la digestione anaerobica o le celle a combustibile microbiche per aumentare il recupero energetico e rendere il sistema più duraturo (Swaminathan et al., 2024).

2.2.4 Dark fermentation

La tecnologia più comunemente riconosciuta per la produzione di Bio-H₂ è la DF (Fig. 2.5). Considerato il numero di studi condotti sullo sviluppo di questo processo, esso consente ai microrganismi di generare H₂ in condizioni anaerobiche. Tuttavia, con la produzione di molti sottoprodotti, la resa minima di H₂ rappresenta un grave inconveniente (Osman et al., 2023). I batteri anaerobici facoltativi o obbligati sono quelli più associati al DF. Questi includono specie come *Clostridium* spp., *Enterobacter* spp. e *Bacillus* spp. (Teke et al., 2024). La produzione di bioidrogeno tramite il processo di fermentazione prevede due vie metaboliche. Nella via glicolitica, il glucosio viene convertito in piruvato e da lì vengono prodotti acetato e butirrato utilizzando acetil Co-A. Il processo di produzione dell'acetato produce quattro molecole di H₂ da una molecola di glucosio, mentre la via del butirrato produce solo due molecole di H₂ da una molecola di glucosio (Pachaiappan et al., 2024).

Nella fermentazione di tipo DF, la produzione di Bio-H₂ è influenzata da diversi parametri. Il valore del pH è il primo parametro da controllare. È stato osservato che il livello di pH influenza il meccanismo del metabolismo e l'attività dei microrganismi, influenzando quindi la decomposizione del substrato e l'efficienza produttiva. È stato osservato che i livelli di pH durante l'operazione, l'inizio e durante il processo vengono meticolosamente mantenuti in numerosi studi per produrre Bio-H₂ in modo costante (Osman et al., 2023). Nelle acque reflue del siero di latte di formaggio, la più elevata produzione di Bio-H₂ è stata riscontrata in condizioni termofile e mesofile a pH rispettivamente di 5,5 e 6,5 (Azbar et al., 2009). (Andolfi et al., 2025) hanno impostato il pH iniziale a circa 6,0 utilizzando 5 g/L di carbonato di sodio per eseguire una dark fermentation ottimale dei residui vegetali utilizzando fecce di vino come nuovo inoculo. (Xing et al., 2010) hanno studiato un ampio intervallo di pH (da 4,0 a 12,0)

per la fermentazione del letame di vacca da latte. Sono stati riscontrati a pH inferiore a 4,0, con la massima resa di Bio-H₂ di 31,5 mL/g VS e non hanno mostrato alcuna produzione di Bio-H₂ a pH superiore a 12,0. Per mantenere il pH in condizioni favorevoli, (Rocha et al., 2024) hanno studiato l'effetto di due agenti tampone, bicarbonato di sodio (NaHCO₃) e carbonato di calcio (CaCO₃), sulla produzione di H₂ dagli scarti di buccia di agrumi e dalle acque reflue di lavorazione degli agrumi. CaCO₃ è stato identificato come l'agente tampone con l'effetto positivo più significativo sulla produzione di H₂. Nei test con CaCO₃ e NaHCO₃, la produzione di H₂ è stata rispettivamente di 1099,7 mL/L e 517,3 mL/L, con un aumento del 176,8% e del 30,2% rispetto al test di controllo (397,4 mL/L). (Zhang e Wang, 2013) hanno raggiunto le massime stabilità misurate con un pH finale di 5,3 e un tempo di fermentazione di 36 ore, utilizzando 3 g di fango derivante dal processo ammoniacale-soda aggiunti a 200 g di acqua fresca, ottenendo una resa massima di H₂ di 145,4 mL di H₂/g VS.

I principali microrganismi che consumano H₂ e che riducono la resa di Bio-H₂ sono i metanogeni idrogenotrofi, che utilizzano Bio-H₂ per produrre Bio-CH₄. Pertanto, l'inibizione di questo tipo di microrganismo è la fase chiave nella fermentazione alcolica. Si ritiene che il pretrattamento dell'inoculo arricchisca i batteri produttori di H₂ e sopprima i metanogeni che consumano H₂ (Dauplain et al., 2020). In un reattore continuo, il parametro importante per una corretta fermentazione del substrato e una produzione efficiente di H₂ è l'HRT. La stabilità del reattore e l'efficienza di utilizzo della materia prima dipendono fortemente dall'HRT (Osman et al., 2023). L'ottimizzazione di questi fattori è essenziale per raggiungere elevati tassi di produzione di Bio-H₂ (Shin e Park, 2013). Un altro aspetto importante è il pretrattamento e la lavorazione della materia prima, come pretrattamenti chimici, meccanici o fisici, per migliorare l'accessibilità della materia organica per la conversione microbica in Bio-H₂ (Mudhoo et al., 2011).

La digestione anaerobica (DF) è una tecnica più interessante per la produzione di bioidrogeno perché offre numerosi vantaggi rispetto ai metodi di produzione di Bio-H₂ descritti in precedenza. Tra i suoi principali vantaggi vi è l'indipendenza dalla luce, che consente di operare in modo efficiente indipendentemente dai cicli giorno-notte o dalle condizioni meteorologiche, a differenza di altri metodi di produzione di Bio-H₂ che si basano sulla luce solare (Akram et al., 2024).

Nel complesso, la digestione anaerobica è considerata la soluzione migliore per la produzione di Bio-H₂ grazie agli elevati tassi di produzione (Teke et al., 2024). Gli sviluppi recenti di questo processo si sono concentrati sul miglioramento della

fattibilità e dell'efficienza della produzione di Bio-H₂ mediante digestione anaerobica (DF) utilizzando diverse strategie, come l'ottimizzazione della progettazione del reattore, inclusi i reattori a biofilm, e delle condizioni operative, l'esplorazione di nuovi substrati (co-digestione), il miglioramento dei consorzi microbici e l'ingegneria genetica batterica (Patel et al., 2024). L'applicazione della tecnica di digestione anaerobica (DF) sia su scala pilota che su larga scala presenta sfide complesse. L'accumulo di acidi grassi volatili (VFA) si verifica frequentemente, causando un calo del pH che può ostacolare i processi microbici e ridurre la produzione di H₂. (Pasupuleti et al., 2014) hanno riportato che la produzione di bioidrogeno è stata influenzata dall'acidificazione (diminuzione del pH a 3,96) a 66 g di COD/L a causa dell'eccessivo accumulo di VFA in un esperimento che utilizzava acqua fresca come substrato in un reattore a biofilm. Hanno concluso che la variazione del carico organico dell'acqua fresca influenzava l'efficienza complessiva della produzione di idrogeno. Valutazioni regolari del pH e l'uso di agenti tampone specifici sono fondamentali per mantenere un ambiente adatto all'attività microbica (Penniston e Gueguim Kana, 2018).

Inoltre, gli organismi che utilizzano idrogeno, come i metanogeni, possono ridurre l'efficienza della generazione di H₂. La scelta della fonte di inoculo e l'impiego di trattamenti termici o chimici sull'inoculo microbico contribuiscono a promuovere i batteri produttori di idrogeno, controllando al contempo i microrganismi dannosi (Basak et al., 2020). (Penteado et al., 2013) hanno studiato l'impatto di diverse fonti di fanghi di semina e metodi di pretrattamento sulla produzione di bioidrogeno all'interno di un reattore UASB utilizzando il saccarosio come substrato. Hanno utilizzato tre inoculi, ovvero fanghi da acque reflue avicole, fanghi da acque reflue suine e autofermentazione, e hanno esposto l'inoculo a calore e shock acidi per aumentare la resa di idrogeno e limitarne i consumi. Le rese di idrogeno prodotte variavano tra 0,7 e 2,1 mol H₂/mol saccarosio, con la resa massima ottenuta nel pretrattamento termico dei fanghi avicoli. Tuttavia, il pretrattamento acido ha facilitato una produzione di idrogeno più stabile, il che significa che lo shock di pH potrebbe essere un processo superiore in termini di costanza.

Anche la scelta del substrato giusto presenta delle difficoltà, soprattutto quando si utilizzano residui agroindustriali che richiedono particolari pretrattamenti per aumentare la biodegradabilità e l'efficienza del processo. Approcci come l'idrolisi termica o i trattamenti enzimatici possono migliorare la scomposizione dei carboidrati complessi, aumentando così la produzione di Bio-H₂ (Gbiete et al., 2024). Nel lavoro

di (Montoya-Rosales et al., 2019), è stato valutato l'uso di idrolizzati enzimatici singoli (Stonezyme, IH) e binari (Celluclast-Viscozyme, BH) di bagassa di agave per la produzione continua di idrogeno in reattori CSTR e TBR. I tassi di produzione volumetrica di H_2 nel CSTR erano rispettivamente di 13 e 2,25 L H_2 /L·d con BH e IH. Nel frattempo, sono stati ottenuti VHPR di 5,76 e 2,0 L H_2 /L·d nella configurazione TBR utilizzando rispettivamente BH e IH.

Inoltre, la regolazione accurata dei parametri operativi, quali l'HRT e la temperatura, è fondamentale per mantenere un processo stabile e ottimizzare la resa di idrogeno (HY). La ricerca indica che operare in condizioni termofile può migliorare la produzione di idrogeno, sebbene sia necessaria un'attenta gestione per prevenire l'inibizione microbica dovuta al calore eccessivo (Balachandar et al., 2020; Tapia-Venegas et al., 2015; Zhao et al., 2024). Ad esempio, (Tomczak et al., 2018) hanno utilizzato un reattore anaerobico APBR nel ricircolo della fase liquida per la produzione continua di bioidrogeno tramite DF. Nel reattore è stato inoculato un fango mesofilo anaerobico proveniente da un impianto di trattamento delle acque reflue urbane. L'APBR è stato condotto a 37 °C e non ha avuto tamponamento del pH. È stato studiato l'effetto dell'HRT teorico di 1-5 ore sulla resa di idrogeno e sull'HPR. Secondo i risultati di questo studio, è possibile aumentare il tasso di produzione di idrogeno utilizzando un APBR con flusso di ricircolo. Tra i valori di HRT dei rispondenti, i valori medi massimi di resa di idrogeno (2,35 mol H_2 /mol di substrato) e HPR (0,085 L/h/L) sono stati sviluppati con un HRT di 2 ore.

Quattro percorsi biologici per la produzione di H₂

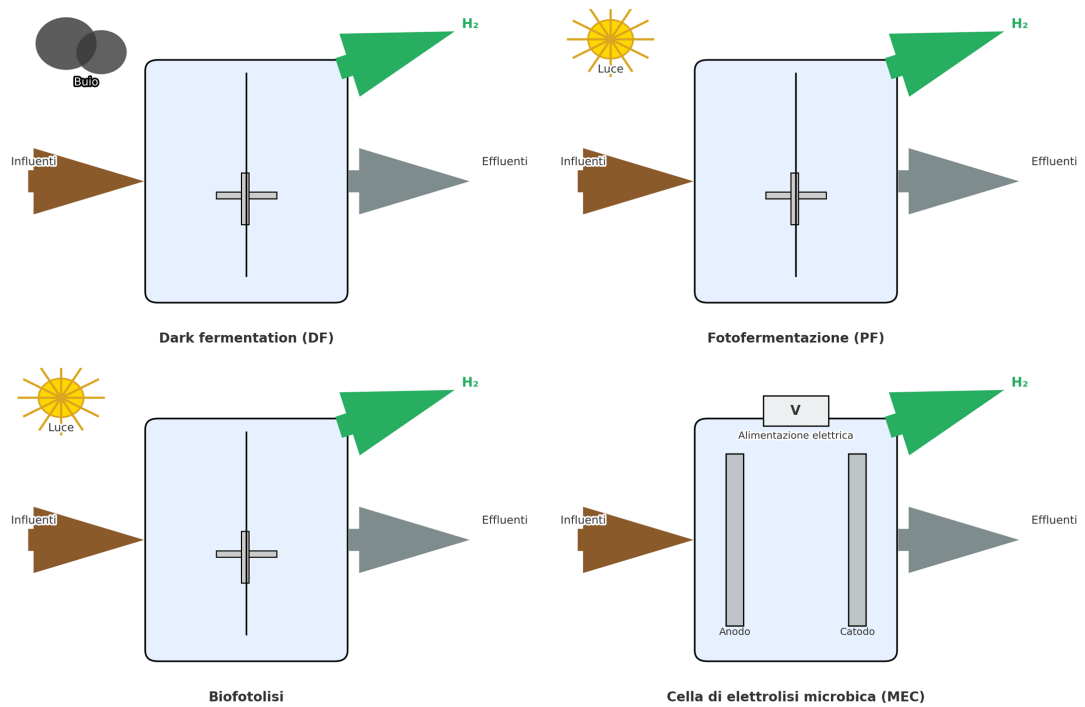


Figura 2.6 – Bioreattori per la produzione di idrogeno. Christopher et al. 2021

Per confrontare la produzione di bioidrogeno mediante questi quattro processi, la tabella 1 elenca alcuni esempi di produzione di ciascun processo con i relativi parametri operativi. Va sottolineato che la combinazione tra AD e DF è molto più utilizzata rispetto alle altre, ma il potenziale di altri processi quali la fotofermentazione e il MEC dovrebbe essere valutato con i reattori a biofilm. Anche il loro utilizzo in un sistema a due stadi con AD è molto interessante, mentre per la biofotolisi, il suo accoppiamento con la metanogenesi idrogenotrofica sarà una novità per lo sfruttamento del bioidrogeno per la produzione di metano.

Tabella 2.6 – Produzione di bioidrogeno attraverso differenti processi biologici

Processo	Substrato	Resa H ₂	Condizioni chiave	Raccomandazioni	Ref
DF	Fondi del caffè (CG) + scarti di frutta e verdura (FVW)	517 mL/g TVS	Batch T 55°C pH 5.5	Il pretrattamento e la co-digestione possono migliorare la produzione di bioidrogeno	(Ouafa et al., 2025)
DF	FW	35 mL/g VS FW	Batch T 37 °C pH 5	Per una maggiore produzione e resa di BioH ₂ , sono necessari adattamenti graduali dell'inoculo alla materia prima..	(Florio et al., 2018)
Photo-fermentation	Rifiuti farinacei	358.8 mL/g glucose	Rhodopseudomonas palustris 42OL pH 6.8 40 W/m ² , per 8 days	Intensità luminosa 40 W/m ² , per 8 giorni È possibile ottenere risultati migliori dalla conversione del lattato in idrogeno provando diversi metodi di miscelazione e lampade più luminose	(Adessi et al., 2018)
Photo-fermentation	Canna di mais	572.4 mL/g reducing sugar	Rhodobacter sphaeroides pH 7.1-7.8 Light 4000 ± 200 lx T 30 °C	L'ottimizzazione dei batteri fotosintetici attraverso l'ingegneria genetica consentirà una fotofermentazione in un unico passaggio, economica e ad alta efficienza	(Wang et al., 2018)
MEC	Percolato da scarti alimentari	589.1 mL/g COD	pH 11.5 e voltaggio 2.4 V, densità di corrente 121.9 A/m ³ , 30 cicli continui (~607 h)	Un'opzione migliore rispetto all'utilizzo del controllo della pressione negativa è quella di modificare il pH del MEC in alcalino, con conseguente aumento significativo della produzione di H ₂ e della potenza	(Ma et al., 2024)
MEC	Acque reflue di processo da patata	74 mL/g COD 73% H ₂	voltaggio 0.9 V T 30°C	Le (MFC) differiscono dalle celle a elettrolisi microbica (MEC). Pertanto, l'uso iniziale di anodi nelle MFC è stato successivamente adottato nelle MEC, riaffermando l'importanza delle popolazioni anodiche di Geobacteraceae nella generazione di corrente nelle MFC e in particolare nella produzione di gas nelle MEC	(Kiely et al., 2011)

2.3 Reattori a Biofilm

I reattori a biofilm sono sistemi di reattori di nuova concezione nel campo del trattamento delle acque reflue. Questi reattori sono sempre più utilizzati nel trattamento delle acque reflue industriali, nella rimozione di inquinanti tossici e nella produzione di energia rinnovabile, come il biogas e il Bio-H₂ (Germec et al., 2020). I reattori a biofilm offrono diversi vantaggi, tra cui una maggiore attività microbica e stabilità, oltre alla capacità di gestire carichi organici più elevati rispetto ai sistemi convenzionali (Germec et al., 2020). Nella produzione di biogas e Bio-H₂, i reattori a biofilm AD e DF svolgono un ruolo cruciale. I biofilm consentono una maggiore ritenzione dei microrganismi attivi, migliorando la decomposizione della materia organica in Bio-CH₄ o Bio-H₂ (Saidulu et al., 2021).

Esistono diversi tipi di reattori anaerobici a biofilm, tra cui (Fig. 2.6):

1. AnMBR: reattore anaerobico a biofilm con membrana
2. AF: filtro anaerobico
3. AFBR: reattore anaerobico a letto fluido
4. AnMBBR: reattore anaerobico a letto mobile di biofilm
5. UASB: letto anaerobico a flusso ascendente

2.3.1 Anaerobic moving biofilm bed reactor (AnMBBR)

Nel campo del trattamento delle acque reflue, il reattore a biofilm a letto mobile (MBBR) si è dimostrato estremamente affidabile nei processi aerobici grazie alle sue elevate portate volumetriche e al basso accumulo di fanghi nel reattore (Biase, 2016). L'evoluzione del processo a biofilm a letto mobile è consistita nell'adozione del meglio dei processi a fanghi attivi e di biofiltrazione. A differenza della maggior parte dei reattori a biofilm introdotti in precedenza, l'AnMBBR utilizza l'intero volume della vasca per la crescita della biomassa, proprio come il reattore a fanghi attivi, ma a differenza di quest'ultimo, non richiede il riciclo dei fanghi, caratteristica che distingue questo tipo di reattore dagli altri reattori a biofilm. Questo si ottiene facendo crescere la biomassa su supporti liberi di muoversi all'interno del reattore. Poiché il ricircolo dei fanghi non è applicabile, è necessario separare solo la biomassa in eccesso, il che rappresenta un notevole vantaggio rispetto al processo a fanghi attivi. Il reattore può essere utilizzato per tutti i processi biologici: aerobici, anossici o anaerobici (Ødegaard, 2024). Il processo AnMBBR (Fig. 2.7 (d)) prevede la crescita in sospensione e adesione. La crescita dei biofilm avviene solitamente su piccoli supporti di plastica o spugna con una densità leggermente inferiore a quella dell'acqua. Questi

supporti continuano a muoversi all'interno del reattore tramite agitazione meccanica in un reattore anaerobico (Saidulu et al., 2021). Le proprietà del supporto sono importanti per limitare il volume utilizzato al fine di ottenere le prestazioni desiderate e ottimizzare al massimo le proprietà di miscelazione. Quasi tutti i supporti prodotti da diverse aziende presentano forme diverse, come cilindrica (AC 450, K3, K1, CM-10DTM), cubica (AC920, BWXTM), sferica (3D-1, 2 e 3) e spugnosa (APG). I sistemi MBBR utilizzano in genere terreni che promuovono l'adesione batterica alle loro superfici. Questa progettazione garantisce un tempo di contatto ottimale tra la biomassa e il substrato, mantenendo al contempo l'appropriata età dei fanghi sul mezzo trattenuto.

Diversi ricercatori stavano lavorando allo sviluppo di questi supporti perché, nel processo di trattamento delle acque reflue a biofilm, la formazione di biofilm sulla superficie del substrato influenza il periodo di avvio del processo. Il controllo della carica superficiale del supporto potrebbe accelerare la formazione di biofilm. La superficie dei supporti convenzionali per biofilm, come polietilene, polipropilene e polietilene ad alta densità, è caricata negativamente, così come la superficie delle cellule batteriche nei fanghi attivi, il che potrebbe portare a una repulsione elettrostatica tra il supporto e i batteri. (Mao et al., 2017) hanno studiato i supporti convenzionali in polietilene ad alta densità modificati con due tipi di polimeri caricati positivamente con diverse intensità di carica, denominati rispettivamente polyquaternium-10 (PQAS-10) e poliacrilammidi cationiche (CPAM), per accelerare l'avvio del processo di trattamento delle acque reflue a biofilm. Hanno scoperto che la carica positiva dei supporti PQAS-10 modificati era maggiore di quella dei supporti CPAM modificati. Rispetto ai supporti CPAM non modificati e modificati, il reattore con supporti PQAS-10 modificati ha registrato un tempo di avvio più breve e una maggiore concentrazione di biomassa adesa. Come risultato del loro esperimento, il reattore con supporti modificati ha mostrato una migliore efficienza di rimozione di COD, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ e TN rispetto al reattore con supporti non modificati. I supporti, solitamente composti da polietilene con una densità prossima a 1 g/cm^3 , si muovono liberamente anche quando occupano il 70% del volume del reattore. A differenza dei reattori a film fisso, l'MBBR garantisce che l'intero volume del reattore sia attivo attraverso una miscelazione accurata. Lo sviluppo di diverse forme di supporti è importante per aumentare la superficie del biofilm e migliorarne le prestazioni. Le dimensioni e la forma dei supporti sono fondamentali per mantenere le superfici protette e ridurre al minimo le limitazioni del trasferimento di massa.

Il miglioramento delle prestazioni del biofilm è l'obiettivo principale dei progressi nella produzione di supporti, soprattutto quando si lavora con batteri a crescita lenta come gli ossidanti anaerobici dell'ammoniaca. Dalla sua installazione iniziale in Norvegia e da oltre 15 anni di funzionamento continuo, la tecnologia MBBR è stata adottata da oltre 1.200 impianti di trattamento delle acque reflue in oltre 50 paesi a partire dal 2014. La tecnologia MBBR è sempre più utilizzata nel trattamento delle acque reflue industriali, mentre è ancora utilizzata principalmente nel trattamento delle acque reflue urbane. Il sistema AnMBBR offre un design di digestione anaerobica a bassa manutenzione, compatto ed economico, promuovendo popolazioni microbiche stabili per la produzione di biogas o Bio-H₂ (Biase, 2016). Tuttavia, alcuni studi sono riusciti a ottenere buoni risultati in un impianto pilota con un volume di 288 L, un diametro di 0,35 m e un'altezza di 3 m, come quello di (Jirasarnporn et al., 2022), che ha lavorato su un AnMBBR su scala pilota con perle di gel di PVA come vettore per il trattamento delle acque reflue dell'industria conserviera del pesce. Il loro studio ha dimostrato il funzionamento efficace di un AnMBBR su scala pilota che utilizza perle di gel di PVA come vettore per il trattamento delle acque reflue. Per tutti gli OLR testati, l'efficienza media di rimozione del COD totale nell'AnMBBR su scala pilota è stata superiore al 60%, mentre l'efficienza media di rimozione del COD solubile è stata superiore al 70% e, con la produzione di biogas, sono state rilevate portate pari a 350 e 750 L/giorno.

L'MBBR è stato ampiamente consolidato nei processi di trattamento aerobico per la sua elevata capacità di carico volumetrico e il minimo accumulo di fanghi. Sebbene l'MBBR aerobico sia frequentemente utilizzato in applicazioni su larga scala, la tecnologia AnMBBR non è ancora pienamente implementata. L'applicazione degli AnMBBR in impianti pilota e su larga scala presenta sfide legate al ricircolo costante dei media, alla gestione della crescita microbica e al trasferimento di massa. Problematiche come la formazione irregolare di biofilm, l'usura dei media e l'accumulo eccessivo di biomassa richiedono una manutenzione periodica, aumentando i costi operativi. Inoltre, la miscelazione inefficiente e le difficoltà di scalabilità limitano l'efficienza del processo su larga scala. La gestione del biogas prodotto introduce ulteriori complessità, tra cui la necessità di raccolta e purificazione. Per affrontare queste sfide, sono necessari miglioramenti nella progettazione dei media e nell'ottimizzazione dei parametri operativi per garantire efficienza e stabilità a lungo termine (Jirasarnporn et al., 2022). Nel campo del trattamento delle acque reflue e della gestione dei rifiuti dell'industria alimentare, l'AnMBBR si è dimostrata eccezionalmente efficace. Un sistema MBBR pilota è stato utilizzato per trattare le

acque reflue derivanti dalla lavorazione di patate e snack, ottenendo sostanziali riduzioni del carico organico e dei solidi sospesi (Emara1 et al., 2017).

Tuttavia, è stata riscontrata una perdita di materiale dal reattore, un problema causato da una progettazione inadeguata delle griglie di uscita. Per risolvere questo problema, il dimensionamento e l'installazione precisi delle griglie sono essenziali per garantire la ritenzione del materiale all'interno del reattore.

In un contesto diverso, nell'industria tessile in Pakistan, un sistema AnMBBR ha trattato efficacemente le acque reflue di sboccimatura, migliorando la qualità degli effluenti e generando una significativa bioenergia. La gestione delle variazioni giornaliere dei carichi organici dovute ai vari processi di sboccimatura era fondamentale, richiedendo un attento controllo dei parametri operativi come la TOS e la concentrazione di ossigeno disciolto (DO) per garantire prestazioni stabili (Shahzad et al., 2020).

Un caso degno di nota nell'industria alimentare brasiliana ha riguardato il trattamento delle acque reflue di un grande impianto di lavorazione della carne. Il sistema AnMBBR ha gestito efficacemente gli elevati carichi organici tipici di questo settore, ottimizzando la produzione di biogas e migliorando la qualità degli effluenti (da Cruz et al., 2023). Un'eccessiva crescita di biofilm, tuttavia, può portare a intasamenti e ridurre l'efficienza del sistema. Pertanto, l'ottimizzazione delle condizioni operative, inclusa la regolazione del rapporto C/N e dell'OD, è fondamentale per mantenere uno spessore adeguato del biofilm e prevenire problemi operativi.

La ricerca condotta da Ødegaard (Ødegaard, 2024) ha dimostrato l'efficienza dei sistemi sia aerobici che anaerobici nel raggiungimento di processi come la rimozione di BOD/COD, la nitrificazione e la denitrificazione. Nei reattori aerobici, la miscelazione avviene tramite aerazione, mentre la miscelazione meccanica o il ricircolo vengono utilizzati nelle configurazioni anaerobiche e anossiche.

Il funzionamento e l'installazione efficaci dei reattori a biofilm per la trasformazione dei FW in biocarburanti (Bio-H₂ e Bio-CH₄) si basano sulla comprensione delle sfide dei FW in termini di proprietà fisiche e chimiche (Ali et al., 2023; Liu et al., 2022). Nella maggior parte dei casi, i FW sono eterogenei e possono causare l'ostruzione delle tubazioni (Cheng et al., 2018; Soto et al., 1992), problemi di trasferimento di massa e crescita irregolare dei biofilm. L'utilizzo di materiali ad elevata superficie specifica e supporti plastici o schiumosi di forma geometrica garantisce l'adesione del biofilm in strati uniformi su tutta la superficie (Jiang et al., 2022).

Il tipo di flusso idraulico (flusso a pistone, corrente ascendente e ricircolo) (Chego, Mogopoleng Paul e Sheridan, Craig Michael e Harding, 2024; Goeres et al., 2020; Mazareli et al., 2016; Wei et al., 2011) dovrebbe sempre essere considerato per la condotta laterale e favorire il trasferimento del substrato ai microrganismi. Sebbene tutti i reattori anaerobici a biofilm offrano nuove opportunità per il trattamento dei rifiuti solidi urbani (FW) e la produzione di biocarburanti, ogni reattore è diverso e dipende principalmente da fattori come l'elevato contenuto di materia organica (Mohamed Ali et al., 2023; Pasupuleti et al., 2014), grandi quantità di grassi, oli e lubrificanti (FOG) (Wei et al., 2011), contenuto di fibre e umidità nei rifiuti (Emara1 et al., 2017).

I filtri anaerobici sono facili ed economici da utilizzare perché il loro supporto solido garantisce la ritenzione dei biofilm e l'assenza di fluttuazioni del sistema. Questi reattori fanno molto affidamento sulla porosità e sulla rugosità del loro supporto per il corretto funzionamento. Per garantire che la maggior parte della biomassa e del biofilm sospesi vengano trattenuti, è necessario utilizzare supporti con molti pori aperti e di grandi dimensioni (Show e Tay, 1999).

Tuttavia, il problema principale del reattore AF, se funziona per lunghi periodi sotto carico elevato, è l'accumulo di biomassa in eccesso, che intasa il letto. Di conseguenza, la capacità di trattamento è limitata. Il liquido scorre lungo determinati percorsi preferenziali, riducendo il tempo di ritenzione dei substrati nel reattore e la quantità di contatto tra i substrati in ingresso e le popolazioni microbiche vitali (Escudié et al., 2011). Alcune soluzioni suggerite, tra cui il pretrattamento della miscela, la selezione di mezzi facilmente attraversabili, la direzione del flusso, il controllo dei nutrienti a fasi e il lavaggio, possono migliorare le prestazioni del reattore AF (Satya et al., 2022).

I reattori UASB sono frequentemente utilizzati per il trattamento delle acque reflue urbane o industriali, ma sono anche più spesso utilizzati per le acque reflue libere. Il reattore UASB è molto efficace nel trattamento dei rifiuti organici solubili e può gestire elevati livelli di ORL. Poiché i fanghi granulari dell'USAB hanno un'ampia superficie, ci sono più punti in cui il biofilm può crescere, viene generato più metano, con conseguente riduzione dei casi di ostruzione e contaminazione (Srisowmeya et al., 2020).

Tuttavia, è ancora difficile per questi reattori produrre e mantenere granuli stabili con rifiuti ad alto contenuto di solidi. A volte, questa disposizione può portare a una scarsa sedimentazione e dissoluzione ad alte portate. Tuttavia, possono diventare più efficaci nella digestione anaerobica trattando sostanze facili e rapide da degradare o combinandole con altri tipi di reattori (Chen et al., 2016; Parawira et al., 2006). La

gestione di pH, temperatura, OLR e HRT è necessaria nel processo e dovrebbe essere adattata al processo di digestione anaerobica o di digestione anaerobica in uso (Fuess et al., 2017). Inoltre, la produzione in due fasi porta a una resa più elevata e stabile. Il monitoraggio degli acidi grassi volatili (VFA), della composizione del gas e della densità del biofilm garantisce il buon funzionamento del reattore (Zainal et al., 2020).

AnMBR è flessibile e scalabile perché utilizza sia il biofilm che la crescita in sospensione. Grazie alla loro facilità di utilizzo con molte materie prime e alla capacità di gestire gli shock, questi reattori rappresentano un'ottima scelta per la digestione anaerobica. Per ottenere un'elevata produzione di biogas, è importante scegliere il mezzo di trasporto corretto: è stato riscontrato che i mezzi di trasporto sferici presentano tassi di formazione di biofilm più rapidi (Dias et al., 2018). L'AnMBR è in grado di raggiungere 470 mL di biogas/g di VS aggiunto (Ariunbaatar et al., 2021), nonché 147 mL di H₂/g di VS aggiunto nei processi di digestione anaerobica e di decomposizione (DF) durante il trattamento di acque reflue (FW) (ulteriori risultati per ciascun reattore sono riportati nella Tabella 3). Gli studi hanno dimostrato che l'avvio dell'AnMBR è cruciale; i ricercatori hanno suggerito un inoculo più concentrato e una maggiore durata del contatto, che miglioreranno la formazione di biofilm (Satya et al., 2022). Inoltre, i problemi più comuni riguardano la separazione o l'accumulo dei portatori di biofilm a diversi livelli nel reattore, causando lo spreco di quelli con più biofilm e minore trasferimento di massa. Per risolvere questo problema, è possibile aumentare la velocità di agitazione, produrre picchi di pressione e flusso elevati, implementare separatori esterni, posizionare una girante sulla parte superiore o dotare il reattore di una sezione conica per migliorare le prestazioni (Escudié et al., 2011).

Tabella 2.7 – Reattori a biofilm per il trattamento degli scarti organici

<i>Tipo di reattore</i>	<i>Caratteristiche influente</i>	<i>Parametri operativi</i>	<i>T (°C)</i>	<i>Materiale di supporto</i>	<i>Area Specifica</i>	<i>Caratterizzazione supporto</i>	<i>Caratteristiche effluente e resa di biogas</i>	<i>REF.</i>
ACFBr	Substrato sintetico	OLR: 10 g-waste/glucose/d HRT: 2d	35-37	Polyamide 6	0.0131 m ² /g	Diametro: 1.8 -3.1 mm	26.23 mL H ₂ L/h COD 35.75%	(Chen et al., 2024)
AF	Rifiuti da mensa	OLR 6-66 g COD/L/d	30±2	Coconut coir	-	Porosità 0.18	Rimozione COD 87% H ₂ produzione 9670 mL/h	(Pasupuleti et al., 2014)
AF	Rifiuti da mensa	-	37	Carbone attivo granulare	-	-	Rimozione TCOD > 50% Biogas produzione 1523 mL	(Ali et al., 2023)
AnFBR	Reflui da scarti dell'industria alimentare	OLR 0.7-12.9 g COD/L*d HRT 240 a 7.7 d	40	Plastico	350 m ² /m ³	Diametro: 15 mm	550 mL biogas/g VS	(Kastner et al., 2012)
AnFBR	Reflui da scarti alimentari	OLR 1.6-5.6 kg COD /m ³ /d HRT 24h	-	Polvere da legna	-	Densità: 0.65 g/L	Rimozione COD 80.1% Biogas produzione 43.5 mL/g COD	(Wei et al., 2011)
AnMBBR	Reflui da industria della pesca	OLR 3.0- 8.7 g COD/m ³ /d	-	PVA gels beads	-	Diametro: 4 mm, densità specifica 1.025	Biogas produzione 31.3-42.4 mL/g COD 70.6 – 81.0 %COD rimozione	(Jirasaranporn et al., 2022)
AnMBBR	FW	HRT: 35-62-124 d OLR: 0.51, 1.4, and 2.45 kg VS/m ³ /d	31±3	K1 high-density polyethylene	-	Diameter: 16 mm Thickness: 1 cm	Biogas produzione 622.7 mL/g COD add COD rimozione 85% VS rimozione 79%	(Pramanik et al., 2019)
UASB	Substrato sintetico	OLR 2660 mg COD/L and 4140 mg COD/L, HRT 2 d	35	Glass Graphite	7.795 m ² /g 2.579 m ² /g	Pore: 0.002 cm ³ /g Pore: 0.004 cm ³ /g	COD removal 80 and 86% for low OLR and 63% and 76% for high OLR, production rate 2.27 – 2.38 mL/g COD (Glass) 2.32 – 3.30 mL/g COD (Graphite)	(Tsui et al., 2020)
UASB	FW	OLR 21.9 kg VS added/m ³ HRT 10-day	36.5–37	-	-	-	Biogas prodotto 640 mL/g FW 74 % di COD rimozione	(Tufaner, 2021)
UASB	Refluo da macelleria	OLR 1.75-32 g/L/d HRT 24 hour	36	-	-	-	TSS rimozione > 90% COD rimozione 95%	(Musa et al., 2019)

2.4 Conclusioni

I reattori anaerobici a biofilm per il trattamento dei rifiuti alimentari offrono una prospettiva molto promettente per il trattamento anaerobico di tali substrati e la produzione di biogas.

La maggior parte della ricerca viene condotta in sistemi su scala di laboratorio, mentre solo pochi bioreattori sono stati valutati su scala pilota. Diversi tipi di reattori a biofilm sono stati utilizzati per il trattamento di rifiuti alimentari solidi e liquidi; tra questi, gli AnMBR sono quelli che operano più frequentemente di qualsiasi altro bioreattore. Generalmente, questi reattori operano in condizioni mesofile e i dati relativi alle loro prestazioni in condizioni termofile o ambientali sono limitati. Tutti i bioreattori analizzati hanno mostrato ottime prestazioni di trattamento a temperature mesofile, dimostrando l'importanza fondamentale del controllo ottimale delle condizioni operative.

La letteratura scientifica dimostra che l'ottimizzazione di OLR e HRT è stata fondamentale per garantire il buon funzionamento dei reattori a biofilm. Inoltre, sono stati sviluppati reattori a biofilm ibridi per aumentare l'efficienza del processo. Tra questi, l'UASB ha mostrato una maggiore efficienza di rimozione del COD (pari al 95%) e una resa di produzione di biogas sostanzialmente più elevata rispetto ad altri reattori a biofilm. Tuttavia, nonostante lo sviluppo tecnologico, alcuni inconvenienti ostacolano ancora l'implementazione su larga scala di questi sistemi.

La sfida principale è legata alla scalabilità dei reattori anaerobici a biofilm, poiché il passaggio da sistemi di laboratorio a impianti su scala industriale introduce variabili incontrollate come la crescita e la distribuzione della biomassa nel reattore. Ciò può comportare un potenziale rischio di intasamento e stratificazione della biomassa, compromettendo l'efficienza del processo e richiedendo lo sviluppo di strategie di controllo più efficaci. Ancora più importante, gli inibitori presenti nel FW, come gli acidi grassi volatili e l'ammoniaca, devono essere gestiti in modo appropriato per evitare l'inibizione microbica e ridurre la produzione di biogas, alterando la stabilità del processo.

L'inclusione di reattori anaerobici a biofilm nel processo DF è un altro fattore importante nella produzione di Bio-H₂, in quanto vettore energetico a più alto valore aggiunto e rispettoso dell'ambiente rispetto al Bio-CH₄.

I risultati sperimentali evidenziano notevoli rese di produzione di idrogeno: la co-digestione dei fondi di caffè (CG) con frutta e verdura ha prodotto 517 mL di H₂/g di

TVS, e il percolato di scarti alimentari ha mostrato rese di 589 mL di H₂/g di COD, e la DF della paglia di mais è stata in grado di produrre H₂ fino a 573 mL di H₂/g di zucchero riducente. Questi valori illustrano il potenziale di idrogeno disponibile attraverso l'utilizzo di un reattore a biofilm adeguatamente ottimizzato. Tuttavia, i microrganismi che catturano l'idrogeno possono ridurre notevolmente le rese di H₂, inclusi i metanogeni, e pertanto è necessario considerare il pretrattamento dell'inoculo e l'arricchimento selettivo per recuperare l'idrogeno in modo efficiente e riutilizzabile, anziché disperderlo a favore dei batteri.

Oltre alle strategie di selezione microbica, il pretrattamento dell'inoculo rappresenterebbe un modo per migliorare l'efficienza del processo, sebbene siano necessarie ulteriori ottimizzazioni in merito a questi aspetti. I reattori a biofilm offrono significativi contributi e valore ambientali ed economici. Le comunità microbiche immobilizzate e le caratteristiche strutturali del biofilm producono una soluzione effluente di qualità superiore con un livello organico residuo inferiore e un profilo residuo migliore, che riduce la quantità di lucidatura necessaria nel trattamento degli scarichi di acque reflue industriali. La tecnologia del biofilm è inoltre generalmente più resistente agli urti e agli inibitori, con conseguenti minori costi di manutenzione e operativi nel tempo. La modularità della tecnologia del biofilm è inoltre particolarmente indicata per impianti decentralizzati, progettati su misura per soluzioni locali per il trattamento dei rifiuti e il recupero energetico.

Queste sfide, pertanto, richiedono ulteriore ricerca e sviluppo nella progettazione dei reattori, nell'ottimizzazione delle condizioni operative e nel miglioramento della fattibilità economica per applicazioni su larga scala, al fine di colmare il divario tra i risultati di laboratorio e l'applicazione pratica. Nonostante queste sfide rimanenti, i reattori anaerobici a biofilm rappresentano una soluzione promettente per il trattamento sostenibile dei rifiuti solidi urbani (FRU) e la produzione di biogas. Un aumento dei finanziamenti per la ricerca e degli investimenti nello sviluppo tecnologico potrebbe mettere in gioco tali sistemi, che potrebbero fungere da fattore cruciale per una migliore sostenibilità nella gestione dei rifiuti e nella produzione di energia rinnovabile e più pulita.

2.5 Bibliografia

A Aziz, M.M., Kassim, K.A., ElSergany, M., Anuar, S., Jorat, M.E., Yaacob, H., Ahsan, A., Imteaz, M.A., Arifuzzaman, 2020. Recent advances on palm oil mill

effluent (POME) pretreatment and anaerobic reactor for sustainable biogas production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 119. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109603>

Abera, G.B., Trømborg, E., Solli, L., Walter, J.M., Wahid, R., Govasmark, E., Horn, S.J., Aryal, N., Feng, L., 2024. Biofilm application for anaerobic digestion: a systematic review and an industrial scale case. *Biotechnol. Biofuels Bioprod.* 17. <https://doi.org/10.1186/s13068-024-02592-4>

Abuabdou, S.M.A., Ahmad, W., Aun, N.C., Bashir, M.J.K., 2020. A review of anaerobic membrane bioreactors (AnMBR) for the treatment of highly contaminated landfill leachate and biogas production: Effectiveness, limitations and future perspectives. *J. Clean. Prod.* 255, 120215. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120215>

Ahmad, I., Ahmad, F., Pichtel, J., 2011. Chapter 3 The Biofilm Returns: Microbial Life at the Interface Anand, in: *Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications*. pp. 1–516. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7931-5>

Ahuja, V., Arora, A., Chauhan, S., Thakur, S., Jeyaseelan, C., Paul, D., 2023. Yeast-Mediated Biomass Valorization for Biofuel Production: A Literature Review. *Fermentation* 9, 1–20. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090784>

Akca, M.S., Bostancı, O., Aydin, A.K., Koyuncu, I., Altınbaş, M., 2021. BioH₂ production from food waste by anaerobic membrane bioreactor. *Int. J. Hydrogen Energy* 46, 27941–27955. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.06.042>

Akram, F., Fatima, T., Ibrar, R., ul Haq, I., 2024. Biohydrogen: Production, promising progressions and challenges of a green carbon-free energy. *Sustain. Energy Technol. Assessments* 69, 103893. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2024.103893>

Al-asheh, Sameer, A. Aidan, and M.B., 2021. Membrane bioreactor for wastewater treatment: A review C. *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 4. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2021.100109>

Ali, A.M., Alam, Z., Abdoul-latif, F.M., Jami, M.S., Bouh, I.G., Bello, I.A., Ainane, T., 2023. Production of Biogas from Food Waste Using the Anaerobic Digestion Process with Biofilm-Based Pretreatment. *Processes* 11, 655.

Alvarado-vallejo, A., Mar, O., Rosas-mendoza, E.S., M, J.M., Alvarado-lassman, A., 2024. The Valorization of Fruit and Vegetable Wastes Using an Anaerobic Fixed Biofilm Reactor: A Case of Discarded Tomatoes from a Traditional Market. *Processes* 12, 1923.

Amha, Y.M., Corbett, M., Smith, A.L., 2019. Two-Phase Improves Performance of Anaerobic Membrane Bioreactor Treatment of Food Waste at High Organic Loading Rates. *Environ. Sci. Technol.* 53, 9572–9583. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02639>

Andolfi, A., Bianco, F., Sannino, M., Faugno, S., Race, M., 2025. Dark-fermentative biohydrogen production from vegetable residue using wine lees as novel inoculum. *Bioresour. Technol.* 429, 132495. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.132495>

Anwar, M., Lou, S., Chen, L., Li, H., Hu, Z., 2019. Recent advancement and strategy on bio-hydrogen production from photosynthetic microalgae. *Bioresour. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121972>

Ariunbaatar, J., Bair, R., Ozcan, O., Ravishankar, H., Esposito, G., Lens, P.N.L., Yeh, D.H., 2021. Performance of AnMBR in Treatment of Post-consumer Food Waste: Effect of Hydraulic Retention Time and Organic Loading Rate on Biogas Production and Membrane Fouling. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.594936>

Arsova, L., 2010. Anaerobic digestion of food waste: Current status, problems and an alternative product. M.S. Degree Thesis in Earth Resour. Eng. Columbia Univ. 1–67.

Atelge, M.R., Senol, H., Mohammed, D., Hansu, T.A., Krisa, D., Atabani, A., Eskicioglu, C., Muratçobanoğlu, H., Unalan, S., Slimane, K., Azbar, N., Kivrak, H.D., 2021. A critical overview of the state-of-the-art methods for biogas purification and utilization processes. *Sustain.* 13. <https://doi.org/10.3390/su132011515>

Azbar, N., Dokgöz, F.T., Keskin, T., Eltem, R., Korkmaz, K.S., Gezgin, Y., Akbal, Z., Öncel, S., Dalay, M.C., Gönen, Ç., Tutuk, F., 2009. Comparative evaluation of bio-hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic and mesophilic anaerobic conditions. *Int. J. Green Energy* 6, 192–200. <https://doi.org/10.1080/15435070902785027>

Balachandar, G., Varanasi, J.L., Singh, V., Singh, H., Das, D., 2020. Biological hydrogen production via dark fermentation: A holistic approach from lab-scale to pilot-scale. *Int. J. Hydrogen Energy* 45, 5202–5215. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.09.006>

Barca, C., Soric, A., Ranava, D., Giudici-Orticoni, M.T., Ferrasse, J.H., 2015. Anaerobic biofilm reactors for dark fermentative hydrogen production from wastewater: A review. *Bioresour. Technol.* 185, 386–398. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.063>

Basak, B., Jeon, B.H., Kim, T.H., Lee, J.C., Chatterjee, P.K., Lim, H., 2020. Dark fermentative hydrogen production from pretreated lignocellulosic biomass: Effects of inhibitory byproducts and recent trends in mitigation strategies. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 133, 110338. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2020.110338>

- Bharathiraja, B., Sudharsanaa, T., Bharghavi, A., Jayamuthunagai, J., Praveenkumar, R., 2016. Biohydrogen and Biogas – An overview on feedstocks and enhancement process. *Fuel* 185, 810–828. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.08.030>
- Bianco, F., Ali Saeed Al-Gheethi, A., Race, M., 2023. Coupling of Anammox Activity and PAH Biodegradation: Current Insights and Future Directions. *Processes* 11, 458. <https://doi.org/10.3390/pr11020458>
- Biase, A., 2016. Industrial Wastewater Treatment With Anaerobic Moving Bed Biofilm Reactor. Univ. Manitoba, Dep. Civ. Eng.
- Chan, P.C., Lu, Q., de Toledo, R.A., Gu, J.D., Shim, H., 2019. Improved anaerobic co-digestion of food waste and domestic wastewater by copper supplementation – Microbial community change and enhanced effluent quality. *Sci. Total Environ.* 670, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.081>
- Chego, Mogopoleng Paul and Sheridan, Craig Michael and Harding, K., 2024. Biohydrogen Production in a Modified Anaerobic Moving Bed Biofilm Reactor (Ambbr) Using Beetroot Carrot Pulp Waste. *SSNR* 37. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4902272>
- Chelliapan, S., Arumugam, N., Md. Din, M.F., Kamyab, H., Ebrahimi, S.S., 2020. Anaerobic treatment of municipal solid waste landfill leachate, in: *Bioreactors: Sustainable Design and Industrial Applications in Mitigation of GHG Emissions*. INC, pp. 175–193. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821264-6.00011-5>
- Chen, C., Guo, W., Ngo, H.H., Lee, D.J., Tung, K.L., Jin, P., Wang, J., Wu, Y., 2016. Challenges in biogas production from anaerobic membrane bioreactors. *Renew. Energy* 98, 120–134. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.03.095>
- Chen, H., Fu, Y., Song, Y., Wu, Q., Cao, W., Liu, Z., Wei, X., 2024. Study on the process and performance of anaerobic circulating fluidized bed: Effects of fluidization velocity and particle circulation rate on hydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy* 91, 343–353. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2024.10.147>
- Cheng, H., Hiro, Y., Hojo, T., Li, Y.Y., 2018. Upgrading methane fermentation of food waste by using a hollow fiber type anaerobic membrane bioreactor. *Bioresour. Technol.* 267, 386–394. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.045>
- Costa, J.C.B., Dias, I.M., Mourão, L.C., Souza, G.B.M. d., Pereira, M.B., Freitas, F.F., Alonso, C.G., 2025. Supercritical water gasification of food waste for hydrogen production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 208. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2024.115091>
- da Cruz, A.G., Pimentel, T.C., Sant’Anna Junior, G.L., Vendramel, S.M.R., 2023. Advanced strategies for dairy wastewater treatment: a perspective, in: *Advanced*

Technologies in Wastewater Treatment: Food Processing Industry. Elsevier, pp. 275–310. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-88510-2.00012-9>

Dauphain, K., Trably, E., Santa-Catalina, G., Bernet, N., Carrere, H., 2020. Role of indigenous bacteria in dark fermentation of organic substrates. *Bioresour. Technol.* 313, 123665. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123665>

Dereli, R.K., Ersahin, M.E., Ozgun, H., Ozturk, I., Jeison, D., van der Zee, F., van Lier, J.B., 2012. Potentials of anaerobic membrane bioreactors to overcome treatment limitations induced by industrial wastewaters. *Bioresour. Technol.* <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.139>

Dias, J., Bellingham, M., Hassan, J., Barrett, M., Stephenson, T., Soares, A., 2018. Influence of carrier media physical properties on start-up of moving attached growth systems. *Bioresour. Technol.* 266, 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.096>

Dvořák, L., Gómez, M., Dolina, J., Černín, A., 2016. Anaerobic membrane bioreactors — a mini review with emphasis on industrial wastewater treatment: applications, limitations and perspectives. *Desalin. Water Treat.* 3994, 1–15. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1100879>

Emaral, M.M., Abd, A.M.A., Amir, E.-R., Sayedahmed4, A.M., 2017. Industrial Food Processing Wastewater Treatment by Modified Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR). *Int. J. Sci. Eng. Res.* 8, 929–934.

Escudié, R., Cresson, R., Delgenès, J.P., Bernet, N., 2011. Control of start-up and operation of anaerobic biofilm reactors: An overview of 15 years of research. *Water Res.* 45, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.081>

Fia, F.R.L., Matos, A.T., Borges, A.C., Fia, R., Cecon, P.R., 2012. Treatment of wastewater from coffee bean processing in anaerobic fixed bed reactors with different support materials: Performance and kinetic modeling. *J. Environ. Manage.* 108, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.033>

Fisgativa, H., Tremier, A., Le Roux, S., Bureau, C., Dabert, P., 2017. Understanding the anaerobic biodegradability of food waste: Relationship between the typological, biochemical and microbial characteristics. *J. Environ. Manage.* 188, 95–107. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.11.058>

Fuess, L.T., Kiyuna, L.S.M., Ferraz, A.D.N., Persinoti, G.F., Squina, F.M., Garcia, M.L., Zaiat, M., 2017. Thermophilic two-phase anaerobic digestion using an innovative fixed-bed reactor for enhanced organic matter removal and bioenergy recovery from sugarcane vinasse. *Appl. Energy* 189, 480–491. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2016.12.071>

Fung Min Liew, M.K. and S.D.S., 2016. Chapter 5 Gas Fermentation for Commercial Biofuels Production, in: Intech. p. 15.

Gao, M., Zhang, L., Liu, Y., 2020. High-loading food waste and blackwater anaerobic co-digestion: Maximizing bioenergy recovery. *Chem. Eng. J.* 394, 124911. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124911>

Gbiete, D., Narra, S., Mani Kongnine, D., Narra, M.M., Nelles, M., 2024. Insights into Biohydrogen Production Through Dark Fermentation of Food Waste: Substrate Properties, Inocula, and Pretreatment Strategies. *Energies* 17. <https://doi.org/10.3390/en17246350>

Germec, M., Demirci, A., Turhan, I., 2020. Biofilm reactors for value-added products production: An in-depth review. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 27, 101662. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101662>

Ghag, S.B., Vavilala, S.L., D'Souza, J.S., 2019. Metabolic engineering and genetic manipulation of novel biomass species for biofuel production, in: *Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts: Technologies and Approaches for Scale-Up and Commercialization*. Elsevier Inc., pp. 13–34. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817941-3.00002-4>

Goeres, D.M., Pedersen, S., Warwood, B., Walker, D.K., Parker, A.E., Mettler, M., Sturman, P., 2020. Design and fabrication of biofilm reactors, in: *Recent Trends in Biofilm Science and Technology*. Elsevier Inc., pp. 71–88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819497-3.00003-9>

Guo, W., Ngo, H.H., Li, J., 2012. A mini-review on membrane fouling. *Bioresour. Technol.* 122, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.089>

Gurubel Tun, K.J., León-Becerril, E., García-Depraect, O., 2025. Optimal control strategy based on artificial intelligence applied to a continuous dark fermentation reactor for energy recovery from organic wastes. *Green Energy Resour.* 3. <https://doi.org/10.1016/j.gerr.2024.100112>

Haandel, A.C. Van, 1996. The UASB reactor as an alternative for the septic tank for on-site sewage treatment. *Water Sci. Technol.* 48, 221–226. <https://doi.org/10.2166/wst.2004.0846>

Held, C., Wellacher, M., Robra, K.H., Gübitz, G.M., 2002. Two-stage anaerobic fermentation of organic waste in CSTR and UFAF-reactors. *Bioresour. Technol.* 81, 19–24. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00108-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00108-0)

Henze, M., Harremoës, P., 1983. Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors - A literature review. *Water Sci. Technol.* 15, 1–101. <https://doi.org/10.2166/wst.1983.0161>

Hossain, G.S., Liu, L., Du, G.C., 2017. Industrial Bioprocesses and the Biorefinery Concept. *Curr. Dev. Biotechnol. Bioeng. Bioprocesses, Bioreact. Control.* 3–27. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63663-8.00001-X>

Hu, Y., Ma, H., Wu, J., Kobayashi, T., Xu, K.Q., 2022. Performance Comparison of CSTR and CSFBR in Anaerobic Co-Digestion of Food Waste with Grease Trap Waste. *Energies* 15, 1–11. <https://doi.org/10.3390/en15238929>

Huang, J., Feng, H., Huang, L., Ying, X., Shen, D., Chen, T., Shen, X., Zhou, Y., Xu, Y., 2020. Continuous hydrogen production from food waste by anaerobic digestion (AD) coupled single-chamber microbial electrolysis cell (MEC) under negative pressure. *Waste Manag.* 103, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.12.015>

Hulshoff Pol, L.W., De Castro Lopes, S.I., Lettinga, G., Lens, P.N.L., 2004. Anaerobic sludge granulation. *Water Res.* 38, 1376–1389. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.12.002>

J.H. Reith, R.H.W. and H.B. (Ed.), 2014. Bio-methane & Bio-hydrogen Status and perspectives of biological methane and hydrogen production. Dutch Biological Hydrogen Foundation.

Jaafari, J., Mesdaghinia, A., Nabizadeh, R., Hoseini, M., Kamani, H., Mahvi, A.H., 2014. Influence of upflow velocity on performance and biofilm characteristics of Anaerobic Fluidized Bed Reactor (AFBR) in treating high-strength wastewater. *J. Environ. Heal. Sci. Eng.* 12, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40201-014-0139-x>

Jain, M., 2018. Anaerobic Membrane Bioreactor as Highly Efficient and Reliable Technology for Wastewater Treatment—A Review. *Adv. Chem. Eng. Sci.* 08, 82–100. <https://doi.org/10.4236/aces.2018.82006>

Janesch, E., Pereira, J., Neubauer, P., Junne, S., 2021. Phase Separation in Anaerobic Digestion: A Potential for Easier Process Combination? *Front. Chem. Eng.* 3, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fceng.2021.711971>

Javed, M.A., Zafar, A.M., Aly Hassan, A., Zaidi, A.A., Farooq, M., El Badawy, A., Lundquist, T., Mohamed, M.M.A., Al-Zuhair, S., 2022. The role of oxygen regulation and algal growth parameters in hydrogen production via biophotolysis. *J. Environ. Chem. Eng.* 10, 107003. <https://doi.org/10.1016/J.JECE.2021.107003>

Jiang, M., Huang, J., Li, P., Ataa, B., Gu, J., Wu, Z., Qiao, W., 2023. Optimization of membrane filtration and cleaning strategy in a high solid thermophilic AnMBR treating food waste. *Chemosphere* 342, 140151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140151>

Jiang, M., Qiao, W., Jiang, P., Wu, Z., Lin, M., Sun, Y., Dong, R., 2022. Mitigating membrane fouling in a high solid food waste thermophilic anaerobic membrane bioreactor by incorporating fixed bed bio-carriers. *Chemosphere* 292, 133488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133488>

Jiang, M., Wu, Z., Yao, J., M.Wandera, S., Algapani, D.E., Dong, R., Qiao, W., 2021. Enhancing the performance of thermophilic anaerobic digestion of food waste by introducing a hybrid anaerobic membrane bioreactor. *Bioresour. Technol.* 341, 125861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125861>

Jingura, R.M., Kamusoko, R., 2017. Methods for determination of biomethane potential of feedstocks: a review. *Biofuel Res. J.* 4, 573–586. <https://doi.org/10.18331/BRJ2017.4.2.3>

Jirasaranporn, A., Jantharadej, K., Wongwailikhit, K., Chawengkijwanich, C., Lohwatcharin, J., Suwannasilp, B.B., 2022. A pilot-scale anaerobic moving-bed biofilm reactor with PVA gel beads as media for the treatment of fish canning industry wastewater. *Water Reuse* 12, 206–222. <https://doi.org/10.2166/wrd.2022.090>

Kang, I.J., Yoon, S.H., Lee, C.H., 2002. Comparison of the filtration characteristics of organic and inorganic membranes in a membrane-coupled anaerobic bioreactor. *Water Res.* 36, 1803–1813. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00388-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00388-8)

Karthikeyan, K., Kandasamy, J., 2009. Upflow Anaerobic Sludge Blanket (Uasb) Reactor in Wastewater Treatment. *WATER WASTEWATER Treat. Technol. - Vol. II* 180–198.

Kashif, M., Kashif, A., Ranjan, P., Aslam, M., Fuwad, A., Choi, Y., J, R.B., Hoon, J., Kumar, G., 2020. A brief review of anaerobic membrane bioreactors emphasizing recent advancements, fouling issues and future perspectives. *J. Environ. Manage.* 270, 110909. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110909>

Kastner, V., Somitsch, W., Schnitzhofer, W., 2012. The anaerobic fermentation of food waste: A comparison of two bioreactor systems. *J. Clean. Prod.* 34, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2012.03.017>

Kurth, J.M., Op den Camp, H.J.M., Welte, C.U., 2020. Several ways one goal—methanogenesis from unconventional substrates. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 104, 6839–6854. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10724-7>

Laiq Ur Rehman, M., Iqbal, A., Chang, C.C., Li, W., Ju, M., 2019. Anaerobic digestion. *Water Environ. Res.* 91, 1253–1271. <https://doi.org/10.1002/wer.1219>

Lee, D.Y., Li, Y.Y., Noike, T., 2009. Continuous H₂ production by anaerobic mixed microflora in membrane bioreactor. *Bioresour. Technol.* 100, 690–695. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.056>

- Lin, H., Peng, W., Zhang, M., Chen, J., Hong, H., Zhang, Y., 2013. A review on anaerobic membrane bioreactors: Applications, membrane fouling and future perspectives. *Desalination* 314, 169–188. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2013.01.019>
- Liu, Y., Lv, Y., Cheng, H., Zou, L., Li, Y.Y., Liu, J., 2022. High-efficiency anaerobic co-digestion of food waste and mature leachate using expanded granular sludge blanket reactor. *Bioresour. Technol.* 362, 127847. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127847>
- Loizia, P., Neofytou, N., Zorpas, A.A., 2019. The concept of circular economy strategy in food waste management for the optimization of energy production through anaerobic digestion. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 14766–14773. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3519-4>
- Lou, X.F., Nair, J., Ho, G., 2013. Potential for energy generation from anaerobic digestion of food waste in Australia. *Waste Manag. Res.* 31, 283–294. <https://doi.org/10.1177/0734242X12474334>
- Lutze, R., Engelhart, M., 2020. Comparison of CSTR and AnMBR for anaerobic digestion of WAS and lipid-rich flotation sludge from the dairy industry. *Water Resour. Ind.* <https://doi.org/10.1016/j.wri.2019.100122>
- Mahmoodi-Eshkaftaki, M., Mockaitis, G., 2022. Structural optimization of biohydrogen production: Impact of pretreatments on volatile fatty acids and biogas parameters. *Int. J. Hydrogen Energy* 47, 7072–7081. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.12.088>
- Mainardis, M., Buttazzoni, M., Goi, D., 2020. Up-Flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) Technology for Energy Recovery: A Review on State-of-the-Art and Recent Technological Advances. *Bioengineering* 7.
- Mao, Y., Quan, X., Zhao, H., Zhang, Y., Chen, S., Liu, T., Quan, W., 2017. Accelerated startup of moving bed biofilm process with novel electrophilic suspended biofilm carriers. *Chem. Eng. J.* 315, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.01.041>
- Martha M. Yeshanew, Luigi Frunzo, Francesco Pirozzi, Piet N.L. Lens, G.E., 2016. Production of biohythane from food waste via an integrated system of continuously stirred tank and anaerobic fixed bed reactors. *Bioresour. Technol.* 0960–8524.
- Martins, I., Surra, E., Ventura, M., Lapa, N., 2022. BioH₂ from Dark Fermentation of OFMSW: Effect of the Hydraulic Retention Time and Organic Loading Rate. *Appl. Sci.* 12. <https://doi.org/10.3390/app12094240>

Maurya, A., Kumar, R., Raj, A., 2023. Biofilm-based technology for industrial wastewater treatment: current technology, applications and future perspectives. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 39. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03567-7>

Mazareli, R.C. da S., Duda, R.M., Leite, V.D., Oliveira, R.A. de, 2016. Anaerobic co-digestion of vegetable waste and swine wastewater in high-rate horizontal reactors with fixed bed. *Waste Manag.* 52, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.03.021>

Mishra, P., Krishnan, S., Rana, S., Singh, L., Sakinah, M., Ab Wahid, Z., 2019. Outlook of fermentative hydrogen production techniques: An overview of dark, photo and integrated dark-photo fermentative approach to biomass. *Energy Strateg. Rev.* 24, 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.esr.2019.01.001>

Mohamed Ali, A., Zahangir, M.A., Mohamed Abdoul-Latif, F., Jami, M.S., Mohamed, J., Ainane, T., 2023. Hydrolysis of Food Waste with Immobilized Biofilm as a Pretreatment Method for the Enhancement of Biogas Production. *Sustain.* 15, 1–17. <https://doi.org/10.3390/su15043316>

Mohmed Moffit, M.A., Suja', F., Kabir Ahmad, I., Bhaskaran, A.N., 2025. Biogas production and reactor performance of a pilot scale anaerobic biofilm digester treating food waste. *Renew. Energy* 243, 122414. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2025.122414>

Montoya-Rosales, J. de J., Olmos-Hernández, D.K., Palomo-Briones, R., Montiel-Corona, V., Mari, A.G., Razo-Flores, E., 2019. Improvement of continuous hydrogen production using individual and binary enzymatic hydrolysates of agave bagasse in suspended-culture and biofilm reactors. *Bioresour. Technol.* 283, 251–260. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.072>

Mudhoo, A., Forster-Carneiro, T., Sánchez, A., 2011. Biohydrogen production and bioprocess enhancement: A review. *Crit. Rev. Biotechnol.* 31, 250–263. <https://doi.org/10.3109/07388551.2010.525497>

Muñoz-Páez, K.M., Ruiz-Ordáz, N., García-Mena, J., Ponce-Noyola, M.T., Ramos-Valdivia, A.C., Robles-González, I. V., Villa-Tanaca, L., Barrera-Cortés, J., Rinderknecht-Seijas, N., Poggi-Varaldo, H.M., 2013. Comparison of biohydrogen production in fluidized bed bioreactors at room temperature and 35°C. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 12570–12579. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.09.172>

Murshid, S., Antonysamy, A.J., Dhakshinamoorthy, G.P., Jayaseelan, A., Pugazhendhi, A., 2023. A review on biofilm-based reactors for wastewater treatment: Recent advancements in biofilm carriers, kinetics, reactors, economics, and future

perspectives. Sci. Total Environ. 892, 164796. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164796>

Ødegaard, H., 2024. Moving Bed Biofilm Reactor. Biomass Energy Sustain. Dev. 242–259. <https://doi.org/10.1201/9781003406501-12>

Onwuemezie, L., Gohari Darabkhani, H., 2024. Biohydrogen production from solar and wind assisted AF-MEC coupled with MFC, PEM electrolysis of H₂O and H₂ fuel cell for small-scale applications. Renew. Energy 224, 120160. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2024.120160>

Osman, A.I., Deka, T.J., Baruah, D.C., Rooney, D.W., 2023. Critical challenges in biohydrogen production processes from organic feedstocks. Biomass Convers. Biorefinery 13, 8383–8401. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00965-x>

Osman, R.M., Hodaifa, G., 2023. An overview of anaerobic membrane bioreactors: Current developments, fouling problems, and future prospects. J. Environ. Chem. Eng. 11, 111482. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111482>

Pachaiappan, R., Cornejo-Ponce, L., Sagade, A.A., Mani, M., Aroulmoji, V., Femilaa Rajan, V., Manavalan, K., 2024. A concise review of recent biohydrogen production technologies. Sustain. Energy Technol. Assessments 62, 103606. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2024.103606>

Parawira, W., Murto, M., Zvauya, R., Mattiasson, B., 2006. Comparative performance of a UASB reactor and an anaerobic packed-bed reactor when treating potato waste leachate. Renew. Energy 31, 893–903. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2005.05.013>

Parthiba Karthikeyan, O., Trably, E., Mehariya, S., Bernet, N., Wong, J.W.C., Carrere, H., 2018. Pretreatment of food waste for methane and hydrogen recovery: A review. Bioresour. Technol. 249, 1025–1039. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.105>

Pasupuleti, S.B., Sarkar, O., Venkata Mohan, S., 2014. Upscaling of biohydrogen production process in semi-pilot scale biofilm reactor: Evaluation with food waste at variable organic loads. Int. J. Hydrogen Energy 39, 7587–7596. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.02.034>

Patel, S.K.S., Gupta, R.K., Rohit, M. V., Lee, J.K., 2024. Recent Developments in Hydrogen Production, Storage, and Transportation: Challenges, Opportunities, and Perspectives. Fire 7, 1–26. <https://doi.org/10.3390/fire7070233>

Penniston, J., Gueguim Kana, E.B., 2018. Impact of medium pH regulation on biohydrogen production in dark fermentation process using suspended and

immobilized microbial cells. *Biotechnol. Equip.* 32, 204–212. <https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1408430>

Penteado, E.D., Lazaro, C.Z., Sakamoto, I.K., Zaiat, M., 2013. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 6137–6145. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.01.067>

Perna, V., Castelló, E., Wenzel, J., Zampol, C., Fontes Lima, D.M., Borzacconi, L., Varesche, M.B., Zaiat, M., Etchebehere, C., 2013. Hydrogen production in an upflow anaerobic packed bed reactor used to treat cheese whey. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.10.022>

Pramanik, S.K., Suja, F.B., Zain, S.M., Pramanik, B.K., 2019. The anaerobic digestion process of biogas production from food waste: Prospects and constraints. *Bioresour. Technol. Reports* 8, 100310. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100310>

Prasanna Kumar, D.J., Mishra, R.K., Chinnam, S., Binnal, P., Dwivedi, N., 2024. A comprehensive study on anaerobic digestion of organic solid waste: A review on configurations, operating parameters, techno-economic analysis and current trends. *Biotechnol. Notes* 5, 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.biotno.2024.02.001>

Pretel, R., Robles, A., Ruano, M. V., Seco, A., Ferrer, J., 2014. The operating cost of an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) treating sulphate-rich urban wastewater. *Sep. Purif. Technol.* 126, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.02.013>

Quiroz-Pérez, E., de Lira-Flores, J.A., Gutiérrez-Antonio, C., 2019. Microreactors: Design methodologies, technology evolution, and applications to biofuels production, Process Intensification: Design Methodologies. <https://doi.org/10.1515/9783110596120-002>

Raj, T., Chandrasekhar, K., Morya, R., Kumar Pandey, A., Jung, J.H., Kumar, D., Singhania, R.R., Kim, S.H., 2022. Critical challenges and technological breakthroughs in food waste hydrolysis and detoxification for fuels and chemicals production. *Bioresour. Technol.* 360, 127512. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2022.127512>

Ramos, C., Zecchino, F., Ezquerro, D., Diez, V., 2014. Chemical cleaning of membranes from an anaerobic membrane bioreactor treating food industry wastewater. *J. Memb. Sci.* 458, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2014.01.067>

Ren, C., Zhang, S., Li, Q., Jiang, Q., Li, Y., Gao, Z., Cao, W., Guo, L., 2024. Pilot composite tubular bioreactor for outdoor photo-fermentation hydrogen production:

From batch to continuous operation. *Bioresour. Technol.* 401, 130705. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.130705>

Rocha, D.H.D., Sakamoto, I.K., Varesche, M.B.A., 2024. Alkali-buffering effect to increase hydrogen production on co-fermentation of citrus agroindustrial waste. *Int. J. Hydrogen Energy* 53, 364–382. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.12.014>

Saidulu, D., Majumder, A., Kumar, A., 2021. A systematic review of moving bed biofilm reactor, membrane bioreactor, and moving bed membrane bioreactor for wastewater treatment: Comparison of research trends, removal mechanisms, and performance. *J. Environ. Chem. Eng.* 9, 106112. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106112>

Saini, S., Tewari, S., Dwivedi, J., Sharma, V., 2023. Biofilm-mediated wastewater treatment: a comprehensive review. *Mater. Adv.* 4, 1415–1443. <https://doi.org/10.1039/d2ma00945e>

Samir Kumar Khanal, 2008. *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production*, John Wiley. ed. University of Hawai'i at Manoa.

Saravanan, A., Karishma, S., Kumar, P.S., Yaashikaa, P.R., Jeevanantham, S., Gayathri, B., 2023. Microbial electrolysis cells and microbial fuel cells for biohydrogen production: current advances and emerging challenges. *Biomass Convers. Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00973-x>

Satya, A., Arrahmah, F.I., Setiadi, T., 2022. Anaerobic biofilm reactor: fundamentals and applications, in: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Advances in Biological Wastewater Treatment Systems*. INC, pp. 407–450. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99874-1.00013-0>

Shahzad, H.M.A., Baumann, C., Khan, S.J., Schönberger, H., Weber, F.A., Zeshan, 2020. Performance evaluation of anaerobic moving bed bioreactor (An-mbbr) for pretreatment of desizing wastewater. *Desalin. Water Treat.* 181, 123–130. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.25106>

Shi, S., Cao, M., Zhang, Y., Fan, X., Liu, S., Chen, J., Zhou, J., 2023. Enhanced hydrolysis/acidogenesis and potential mechanism in thermal-alkali-biofilm synergistic pretreatment of high-solid and low-organic-content sludge. *Bioresour. Technol.* 378, 128988. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128988>

Shi, Y., Liu, T., Chen, S., Quan, X., 2022. Accelerating anaerobic hydrolysis acidification of dairy wastewater in integrated floating-film and activated sludge (IFFAS) by using zero-valent iron (ZVI) composite carriers. *Biochem. Eng. J.* 177, 108226. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2021.108226>

Shin, J., Park, T.H., 2013. Advancement of Biohydrogen Production and Its Integration with Fuel Cell Technology. *Bioprocess. Technol. Biorefinery Sustain. Prod. Fuels, Chem. Polym.* 263–278. <https://doi.org/10.1002/9781118642047.ch14>

Show, K.Y., Tay, J.H., 1999. Influence of support media on biomass growth and retention in anaerobic filters. *Water Res.* 33, 1471–1481. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00352-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00352-2)

Sivaranjani, R., Veerathai, S., Jeoly Jenifer, K., Sowmiya, K., Rupesh, K.J., Sudalai, S., Arumugam, A., 2023. A comprehensive review on biohydrogen production pilot scale reactor technologies: Sustainable development and future prospects. *Int. J. Hydrogen Energy*. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.03.161>

Soto, M., Mendez, R., Lema, J.M., 1992. Characterization and comparison of biomass from mesophilic and thermophilic fixed bed anaerobic digesters. *Water Sci. Technol.* 25, 203–212.

Srirangan, K., Pyne, M.E., Perry Chou, C., 2011. Biochemical and genetic engineering strategies to enhance hydrogen production in photosynthetic algae and cyanobacteria. *Bioresour. Technol.* 102, 8589–8604. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.03.087>

Srisowmeya, G., Chakravarthy, M., Nandhini Devi, G., 2020. Critical considerations in two-stage anaerobic digestion of food waste – A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 119, 109587. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109587>

Stronach, S.M., Rudd, T., Lester, J.N., 1986. Anaerobic digestion processes in industrial wastewater treatment, *Biotechnology monographs*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-71215-9> e-ISBN-13

Swaminathan, P., Ghosh, A., Sunantha, G., Sivagami, K., Mohanakrishna, G., Aishwarya, S., Shah, S., Sethumadhavan, A., Ranjan, P., Prajapat, R., 2024. A comprehensive review of microbial electrolysis cells: Integrated for wastewater treatment and hydrogen generation. *Process Saf. Environ. Prot.* <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.08.032>

Switzenbaum, M.S., 1983. Anaerobic fixed film wastewater treatment. *Enzyme Microb. Technol.* 5, 242–250. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(83\)90072-8](https://doi.org/10.1016/0141-0229(83)90072-8)

Tapia-Venegas, E., Ramirez-Morales, J.E., Silva-Illanes, F., Toledo-Alarcón, J., Paillet, F., Escudie, R., Lay, C.H., Chu, C.Y., Leu, H.J., Marone, A., Lin, C.Y., Kim, D.H., Trably, E., Ruiz-Filippi, G., 2015. Biohydrogen production by dark fermentation: scaling-up and technologies integration for a sustainable system. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9383-5>

Teke, G.M., Anye Cho, B., Bosman, C.E., Mapholi, Z., Zhang, D., Pott, R.W.M., 2024. Towards industrial biological hydrogen production: a review, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03845-4>

Tomczak, W., Ferrasse, J.H., Giudici-Orticoni, M.T., Soric, A., 2018. Effect of hydraulic retention time on a continuous biohydrogen production in a packed bed biofilm reactor with recirculation flow of the liquid phase. *Int. J. Hydrogen Energy* 43, 18883–18895. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.08.094>

Trzcinski, A.P., 2009. Anaerobic membrane bioreactor technology for solid waste stabilization. *Univ. Imp. Coll. London, Dep. Chem. Eng. Chem. Technol.*

Ullah Khan, I., Hafiz Dzarfan Othman, M., Hashim, H., Matsuura, T., Ismail, A.F., Rezaei-DashtArzhandi, M., Wan Azelee, I., 2017. Biogas as a renewable energy fuel – A review of biogas upgrading, utilisation and storage. *Energy Convers. Manag.* 150, 277–294. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.08.035>

Van, D.P., Fujiwara, T., Leu Tho, B., Song Toan, P.P., Hoang Minh, G., 2019. A review of anaerobic digestion systems for biodegradable waste: Configurations, operating parameters, and current trends. *Environ. Eng. Res.* 25, 1–17. <https://doi.org/10.4491/eer.2018.334>

Verrier, D., Roy, F., Albagnac, G., 1987. Two-phase methanization of solid vegetable wastes. *Biol. Wastes* 22, 163–177. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(87\)90022-X](https://doi.org/10.1016/0269-7483(87)90022-X)

Vorobyova, O., 2022. Anaerobic Filters, Anaerobic Fluidized Bed Reactors, Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors - Anaerobic Reactor for Industrial Wastewater Treatment, in: *III International Scientific and Practical Conference «Grundlagen Der Modernen Wissenschaftlichen Forschung»*. Zurich, Switzerland, pp. 84–88. <https://doi.org/10.36074/logos-12.08.2022.24>

Wambugu, C.W., Rene, E.R., van de Vossenberg, J., Dupont, C., van Hullebusch, E.D., 2019. Role of biochar in anaerobic digestion based biorefinery for food waste. *Front. Energy Res.* 7, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2019.00014>

Wang, C., Nakakoji, S., Ng, T.C.A., Zhu, P., Tsukada, R., Tatara, M., Ng, H.Y., 2023. Acclimatizing waste activated sludge in a thermophilic anaerobic fixed-bed biofilm reactor to maximize biogas production for food waste treatment at high organic loading rates. *Water Res.* 242, 120299. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120299>

Weemaes, M., Grootaerd, H., Simoens, F., Verstraete, W., 2000. Anaerobic digestion of ozonized biosolids. *Water Res.* 34, 2330–2336. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(99\)00373-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(99)00373-5)

Wei, C., Zhang, T., Feng, C., Wu, H., Deng, Z., Wu, C., Lu, B., 2011. Treatment of food processing wastewater in a full-scale jet biogas internal loop anaerobic fluidized bed reactor. *Biodegradation* 22, 347–357. <https://doi.org/10.1007/s10532-010-9405-5>

Wei, D., Zhang, X., Chen, Z., He, Y., Dai, J., Zhang, S., 2022. Comparison of three anaerobic digestion reactors for low-carbon wastewater treatment. *Water Environ. Res.* 94, e10702. <https://doi.org/10.1002/wer.10702>

Woolard, C.T., 1997. The advantage of periodically operated biofilm reactors for the treatment of highly variable wastewater. *Wat.Sci.Tech* 35, 199–206.

Xing, Y., Li, Z., Fan, Y., Hou, H., 2010. Biohydrogen production from dairy manures with acidification pretreatment by anaerobic fermentation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 392–399. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0187-4>

Xiros, C., Shahab, R.L., Studer, M.H.P., 2019. A cellulolytic fungal biofilm enhances the consolidated bioconversion of cellulose to short chain fatty acids by the rumen microbiome. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 103, 3355–3365. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09706-1>

Yang, L., Ge, X., Wan, C., Yu, F., Li, Y., 2014. Progress and perspectives in converting biogas to transportation fuels. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 40, 1133–1152. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.08.008>

Yeshanew, M.M., Paillet, F., Barrau, C., Frunzo, L., Lens, P.N.L., Esposito, G., Escudie, R., Trably, E., 2018. Co-production of Hydrogen and Methane From the Organic Fraction of Municipal Solid Waste in a Pilot Scale Dark Fermenter and Methanogenic Biofilm Reactor. *Front. Environ. Sci.* 6, 41. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00041>

Yousefzadeh, S., Ahmadi, E., Gholami, M., Ghaffari, H.R., Azari, A., Ansari, M., Miri, M., Sharafi, K., Rezaei, S., 2017. A comparative study of anaerobic fixed film baffled reactor and up-flow anaerobic fixed film fixed bed reactor for biological removal of diethyl phthalate from wastewater: A performance, kinetic, biogas, and metabolic pathway study. *Biotechnol. Biofuels* 10, 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0826-9>

Zainal, B.S., Danaee, M., Mohd, N.S., Ibrahim, S., 2020. Effects of temperature and dark fermentation effluent on biomethane production in a two-stage up-flow anaerobic sludge fixed-film (UASFF) bioreactor. *Fuel* 263. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116729>

Zhang, J., Wang, Q., 2013. Buffering and nutrient effects of white mud from ammonia-soda process on thermophilic hydrogen fermentation from food waste. *Int. J. Hydrogen Energy* 38, 13564–13571. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.08.047>

Zhang, Z.P., Show, K.Y., Tay, J.H., Liang, D.T., Lee, D.J., 2008. Biohydrogen production with anaerobic fluidized bed reactors-A comparison of biofilm-based and granule-based systems. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 1559–1564. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.09.048>

Zhao, Z.T., Ding, J., Wang, B.Y., Bao, M.Y., Liu, B.F., Pang, J.W., Ren, N.Q., Yang, S.S., 2024. Advances in the biomass valorization in dark fermentation systems: A sustainable approach for biohydrogen production. *Chem. Eng. J.* <https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.148444>

Zinatizadeh, A.A., Mohammadi, P., Mirghorayshi, M., Ibrahim, S., Younesi, H., Mohamed, A.R., 2017. An anaerobic hybrid bioreactor of granular and immobilized biomass for anaerobic digestion (AD) and dark fermentation (DF) of palm oil mill effluent: Mass transfer evaluation in granular sludge and role of internal packing. *Biomass and Bioenergy* 103, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.05.006>

Zuorro, A., García-Martínez, J.B., Barajas-Solano, A.F., 2021. The application of catalytic processes on the production of algae-based biofuels: A review. *Catalysts* 11, 1–25. <https://doi.org/10.3390/catal11010022>

CAPITOLO 3. PRODUZIONE DI BIOIDROGENO UTILIZZANDO FECCE DI VINO COME INOCULO INNOVATIVO

3.1 Introduzione

La crescita della popolazione mondiale è associata a un aumento della produzione di rifiuti e della domanda energetica. La categoria dei rifiuti alimentari rappresenta circa il 30–60% dei rifiuti solidi urbani, e i residui vegetali (VR) vengono prodotti in grandi quantità durante le attività di raccolta da parte delle industrie alimentari, esercitando un'ulteriore pressione sul sistema di gestione dei rifiuti a causa di una produzione globale di ortaggi (inclusi i frutti) pari a 9 miliardi di tonnellate, che porta al ricorso a strategie convenzionali come l'incenerimento e lo smaltimento (Noor et al., 2024; Shanmugam et al., 2023).

Per quanto riguarda la domanda energetica, l'esaurimento delle risorse di combustibili fossili e il loro impatto ambientale negativo (ad esempio, i cambiamenti climatici) hanno portato a un crescente interesse verso promettenti alternative energetiche. L'idrogeno rappresenta un candidato di rilievo poiché mostra un potere energetico più elevato (ossia, circa 120 kJ/g) rispetto ai gas naturali convenzionali come CH₄ (circa 50 kJ/g) (Saravanan et al., 2021). Tuttavia, la maggior parte della produzione di H₂ deriva attualmente da fonti non rinnovabili, rendendo apparentemente questo gas una fonte energetica insostenibile e non ecocompatibile.

In questo contesto complesso, il processo di dark fermentation rappresenta una strategia sostenibile per la produzione di bioidrogeno, offrendo vantaggi significativi rispetto ad altre tecnologie di produzione di H₂ (ad esempio, la fotolisi) (Soares et al., 2020). Questo metodo ecologico è un processo biologico che coinvolge microrganismi, contribuendo così a migliorare la gestione dei rifiuti e a ridurre l'impronta di carbonio. A tal fine, i VR costituiscono un substrato ricco di carboidrati, altamente biodegradabile e adatto alla metabolizzazione da parte dei microrganismi di dark fermentation mirati alla generazione di H₂ (Silva Júnior et al., 2022).

D'altra parte, la resa di bioidrogeno dipende da diverse condizioni operative, come il tipo di inoculo. Alcuni svantaggi possono derivare da normative nazionali che limitano l'ulteriore utilizzo del digestato generato come biofertilizzante, poiché gli inoculi convenzionali, come i fanghi di depurazione, sono identificati come rifiuti e non come sottoprodotti (Malhotra et al., 2022). Inoltre, gli inoculi anaerobici tradizionali richiedono processi di pretrattamento per selezionare microrganismi benefici per la dark fermentation (ad esempio, shock termico o pretrattamento chimico) (Soares et al., 2020), aumentando potenzialmente i costi di gestione.

Le fecce di vino, un residuo dell'industria vinicola (ossia, 0.06 m³ per tonnellata di uva), sono caratterizzate da sostanze biodegradabili, composti polifenolici, acidi tartarici e cellule di lievito sedimentate (Oliveira e Duarte, 2016). A causa della loro elevata domanda chimica di ossigeno, rappresentata principalmente dall'etanolo (fino a circa 120 g/L) e in misura minore dai carboidrati (fino al 5%), le fecce di vino risultano pericolose e non possono essere rilasciate liberamente nell'ambiente (Kucek et al., 2016). Generalmente, le fecce di vino sono sottoposte a ulteriori pratiche (ossia, processo di distillazione e recupero dei sali tartarici) prima di essere trattate con il sistema convenzionale a fanghi attivi (De Iseppi et al., 2020). Pertanto, le fecce di vino possono rappresentare un buon candidato come nuovo inoculo per la dark fermentation.

Nonostante le loro proprietà, le fecce di vino hanno solo recentemente suscitato interesse nella comunità scientifica in ambito di fermentazioni anaerobiche. Infatti, pochi studi sono stati recentemente pubblicati sulle fecce di vino, principalmente per la produzione di acido caproico e acetato tramite il pathway etanoloico (Dessi et al., 2024; Lanfranchi et al., 2025), mentre il potenziale delle fecce di vino come inoculo per la produzione di bioidrogeno di dark fermentation rimane inesplorato.

Questo è il primo lavoro incentrato sull'utilizzo delle fecce di vino come fonte di microrganismi di dark fermentation per la produzione di idrogeno rinnovabile da VR. In particolare, pomodori rossi e verdi, peperoni, fagiolini, zucchine, piselli e melanzane sono stati valutati come substrati per il processo di dark fermentation. Gli obiettivi specifici di questo studio erano: i) valutare la produzione di bioidrogeno dai suddetti VR, non ancora riportata in letteratura, utilizzando le fecce di vino come inoculo; ii) modellare la curva di produzione cumulativa di bioidrogeno mediante cinetiche sigmoidali; iii) valutare la speciazione degli acidi organici e la loro biovalorizzazione tramite digestione anaerobica; iv) identificare la comunità microbica a livello di genere e i geni funzionali coinvolti nel processo biologico; e v) valutare preliminarmente il bilancio energetico in una fermentazione anaerobica a due stadi.

3.2 Materiali e Metodi

In questa sezione sono descritte le matrici impiegate, le condizioni operative e le procedure sperimentali adottate per la valutazione del potenziale di produzione di bioidrogeno e biometano a partire dai residui vegetali e dalle fecce di vino, insieme ai metodi analitici e ai criteri di elaborazione dei dati.

3.2.1 Residui vegetali, fecce di vino e digestato

Le fecce di vino bianco e il digestato sono stati prelevati rispettivamente da una vigna locale dopo la stagione vinicola e da un impianto di digestione anaerobica (Regione Campania, Italia), ed impiegati come inoculo per i processi di fermentazione anaerobica (ossia, dark fermentation e digestione anaerobica, rispettivamente). Ciascun inoculo è stato degassato prima dell'utilizzo per gli esperimenti anaerobici (Holliger et al., 2016). Diversi residui vegetali (VR) — ossia pomodori rossi e verdi, peperoni, fagiolini, zucchine, piselli e melanzane — sono stati raccolti da un'industria locale e utilizzati in questo studio come substrati a causa di evidenti segni di deterioramento, che li rendevano non più idonei alla commercializzazione. I VR sono stati omogeneizzati con un frullatore (200 W per 1 min) (Guo et al., 2014) prima del loro impiego come substrati per gli esperimenti anaerobici.

3.2.2 Test del potenziale biochimico di produzione di idrogeno

I test di potenziale biochimico di produzione di idrogeno (BHP) sono stati eseguiti sui campioni di VR (vedi Sezione 2.1) utilizzando bottiglie di siero da 250 mL, rispettando un rapporto inoculo/substrato (IRS) di 1.0 su base di solidi volatili (VS) (Tena et al., 2019). Diverse condizioni sperimentali per il processo di dark fermentation sono state valutate in triplicato, ovvero: fecce di vino (come inoculo) + a) pomodori rossi (WLRT); b) pomodori verdi (WLGT); c) peperoni (WLBP); d) fagiolini (WLGB); e) zucchine (WLZ); f) piselli (WLP); o g) melanzane (WLE) (come substrato singolo).

Il pH iniziale è stato impostato approssimativamente a 6.0 con 5 g/L di carbonato di sodio (Sigma-Aldrich, Germania, purezza $\geq 99\%$) per ottenere una dark fermentation ottimale (Lee et al., 2008). Ogni bottiglia è stata riempita con acqua demineralizzata fino a raggiungere un volume di lavoro finale di 120 mL (Tena et al., 2019), assicurando un contenuto di solidi totali (TS) finale inferiore al 2% (p/p), quindi spurgata con gas N₂ puro per 5 minuti e sigillata con setti di gomma e crimps in alluminio per ottenere condizioni strettamente anaerobiche (Gadhe et al., 2014). Ogni condizione è stata incubata in ambiente mesofilo (ossia, 37 ± 1 °C) per 60 giorni, fino al raggiungimento del plateau. Le bottiglie sono state agitate manualmente ogni giorno.

È stato inoltre eseguito un test di controllo privo di VR per determinare la resa cumulativa di idrogeno (CHY) ottenuta esclusivamente dalle fecce di vino, che è stata poi sottratta dai risultati di produzione di H₂ dei campioni di VR. La CHY finale è stata espressa come mL H₂/g VS (alle condizioni standard di laboratorio, ossia 25 °C e 101,33 kPa).

3.2.3 Test del potenziale biochimico di produzione di metano

Per valorizzare ulteriormente il digestato ricco di acidi grassi volatili (VFA) ottenuto al termine della dark fermentation, è stato eseguito un processo di digestione anaerobica dal giorno 61 al giorno 147, fino al raggiungimento del plateau nella curva di biogas. Una serie di test di potenziale di produzione di biometano (BMP) è stata condotta in bottiglie di siero da 250 mL con 130 mL di spazio di testa purgato con azoto, in condizioni umide e a 37 ± 1 °C.

È stato impiegato un inoculo anaerobico acclimatato (ossia, il digestato, vedi Sezione 2.1) aggiunto a ciascuna condizione sperimentale rispettando un IRS di 2.0, come riportato da Holliger et al. (2016). In dettaglio, le condizioni sperimentali in triplicato erano: digestato + residuo fermentato di a) pomodori rossi (DRT); b) pomodori verdi (DGT); c) peperoni (DBP); d) fagiolini (DGB); e) zucchine (DZ); f) piselli (DP); o g) melanzane (DE).

Anche in questo caso, il pH iniziale è stato impostato approssimativamente a 7.0 utilizzando una soluzione di idrossido di sodio 1 M, ottimale per i microrganismi presenti nei digestori anaerobici (Montañés et al., 2014). Inoltre, è stato eseguito un reattore di controllo privo di VR fermentato per valutare la resa cumulativa di metano (CMY) ottenuta esclusivamente dal digestato, la quale è stata sottratta agli altri reattori come descritto sopra. La CMY è stata espressa come mL CH₄/g VS (alle condizioni standard di laboratorio, ossia 25 °C e 101,33 kPa) (Oliva et al., 2023).

3.2.4 Metodi analitici

Le fecce di vino, il digestato e i campioni di VR sono stati essiccati in stufa a 105 °C per 24 h per la determinazione dei solidi totali (TS) e inceneriti in muffola a 550 °C per 2 h per determinare la quantità di solidi volatili (VS) (APHA, 2012). Per il calcolo del rapporto C/N (Van Huynh et al., 2024), il carbonio organico totale e l'azoto totale sono stati determinati rispettivamente tramite TOC-L Series (Shimadzu, Kyoto, Giappone) e Total Nitrogen Test Kit (WTW™).

I valori di pH sono stati misurati tramite elettrodo Sentix/940 (WTW, USA). Il biogas è stato raccolto da ciascuna bottiglia di siero utilizzando sacche di raccolta del gas con volume compreso tra 10 e 500 mL, e il suo volume è stato successivamente determinato tramite il metodo di spostamento dell'acqua (Li et al., 2018). La composizione del biogas

in termini di H₂, CH₄ e CO₂ è stata analizzata mediante gascromatografo 3400 GC-TCD (Varian-Agilent, USA) (Monteverde et al., 2024).

Gli acidi grassi volatili (VFA) e l'acido lattico sono stati determinati tramite un HPLC LC-20AD (Shimadzu, Giappone) dotato di colonna Rezex ROA-Organic Acid H⁺ (Phenomenex, USA) mantenuta a 40 °C e rivelatore UV SPD-20A (Shimadzu, Giappone) impostato a 210 nm (Monteverde et al., 2024). Prima dell'analisi, i campioni anaerobici sono stati centrifugati a 10.000 rpm per 10 minuti e filtrati mediante filtri PTFE da 0.45 µm (VWR, Italia). La concentrazione totale di VFA è stata espressa come somma di tutti gli acidi organici rilevati da CH₂O₂ (acido formico) a C₇H₁₄O₂ (acido eptanoico) in equivalenti di acido acetico (mg HAc/L), dividendo la massa molecolare dei VFA e moltiplicando quella dell'acido acetico.

L'amplificazione tramite reazione a catena della polimerasi (PCR), il sequenziamento Illumina, il filtraggio delle sequenze e la classificazione tassonomica sono stati condotti secondo Klindworth et al. (2013). I geni funzionali sono stati identificati mediante il database Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)-Orthology (Kim e Cho, 2025).

3.2.5 Calcoli e analisi statistica

I modelli matematici utilizzati per adattare la CHY ottenuta nel presente studio sono stati le cinetiche di Gompertz modificata (Eq. 1) e Logistica (Eq. 2) (Keskin et al., 2018).

La produzione di idrogeno risultante (H_{2,t}), misurata come mL H₂/g VS, è stata calcolata come segue:

$$H_{2,t} = H_{2,u} \cdot \exp \left(-\exp \left((R_H \cdot e(\lambda - t)/H_{2,u}) + 1 \right) \right) \quad (\text{Eq. 3.1})$$

$$H_{2,t} = H_{2,u} / (1 + \exp \left((4R_H \cdot (\lambda - t)/H_{2,u}) + 2 \right)) \quad (\text{Eq. 3.2})$$

dove H_{2,u} è la resa ultima di idrogeno (mL H₂/g VS), R_H rappresenta la massima velocità di produzione di idrogeno (mL H₂/(g VS·d)), λ indica la fase di latenza (d), ed “e” è il numero di Eulero (circa 2,71828).

Il contenuto energetico del biogas prodotto (E_{H₂} o E_{CH₄}) è stato calcolato su base VS (kJ/g VS) secondo le equazioni riportate da Weide et al. (2019). È stato considerato un potere calorifico inferiore (LHV) di 241,8 e 802,3 kJ/mol per H₂ e CH₄ (Saravanan et al., 2021), rispettivamente, assumendo che 1 mol di biogas possa occupare 22,4 L.

Il guadagno energetico totale (E₀) è stato ottenuto dalla somma di E_{H₂} ed E_{CH₄}. L'energia totale in ingresso (E_i) richiesta dal frullatore è stata calcolata come riportato da Córdova et al. (2018). L'energia netta (E₀ – E_i) è stata infine stimata sottraendo l'energia totale in ingresso dal guadagno energetico totale.

La correlazione di Pearson (r) è stata eseguita utilizzando il tool XLStat per Excel (Addinsoft, USA).

3.3 Risultati e discussione

3.3.1 Caratteristiche fisico-chimiche

Le caratteristiche fisico-chimiche di ciascun inoculo e substrato sono riportate nella Tab. 3.1. A eccezione dei piselli, il contenuto di solidi totali (TS) di tutti i VR era basso (ossia, 5–11% p/p, base umida), indicando un'elevata umidità (Tab. 3.1). Il contenuto di solidi volatili (VS) variava tra l'80 e il 96% dei TS (Tab. 3.1), suggerendo un'elevata presenza di sostanza organica nei diversi VR (Shen et al., 2018), il che implica che tali substrati potrebbero essere idonei per il processo di fermentazione anaerobica a due stadi. D'altra parte, le fecce di vino e il digestato mostravano un contenuto di VS inferiore rispetto ai VR (Tab. 3.1), indicando così una materia organica più stabile. Per quanto riguarda il rapporto C/N, alcuni VR, come melanzane, piselli e peperoni, hanno mostrato valori più elevati (ossia, > 60%) rispetto a pomodori rossi, pomodori verdi e fagiolini (ossia, circa 40%) (Tab. 3.1). Questi rapporti rientrano nell'intervallo considerato idoneo per la dark fermentation (ossia, 5–200) (Lacroux et al., 2023). I valori di pH delle fecce di vino e dei VR erano inferiori a 4,5 (Tab. 3.1) e, pertanto, i biorreattori hanno richiesto l'aggiunta di un agente tampone per raggiungere condizioni ottimali durante la fermentazione anaerobica (Lee et al., 2008; Montañés et al., 2014).

Tabella 3.1 – Caratteristiche fisico-chimiche degli inoculi e dei residui vegetali (VR) impiegati nel presente studio per la fermentazione anaerobica.

Campioni	TS (% w/w) ^a	VS (% TS)	U (% w/w)	C/N (mol/mol)	pH
Inoculo					
Feccia di vino	4.1 ± 0.2	62.9 ± 0.3	95.8 ± 0.2	19.9 ± 0.8	3.5 ± 0.1
Digestato	7.9 ± 0.2	59.5 ± 0.1	92.0 ± 0.2	4.3 ± 0.1	7.7 ± 0.1
Substrato (VR)					
Pomodori rossi	5.5 ± 0.1	80.0 ± 0.7	94.5 ± 0.1	42.5 ± 0.7	3.3 ± 0.3
Pomodori verdi	5.3 ± 0.2	88.7 ± 1.2	94.6 ± 0.2	42.9 ± 0.5	3.4 ± 0.1

Peperoni	7.2 ± 0.1	93.1 ± 0.4	92.8 ± 0.1	67.3 ± 0.9	3.1 ± 0.2
Fagiolini	10.6 ± 0.3	87.7 ± 0.4	89.3 ± 0.3	39.7 ± 0.2	4.0 ± 0.4
Zucchine	5.2 ± 0.2	86.5 ± 0.8	94.7 ± 0.2	50.3 ± 0.5	3.4 ± 0.1
Piselli	19.2 ± 0.2	95.8 ± 0.3	80.7 ± 0.2	65.8 ± 0.3	4.3 ± 0.2
Melanzane	6.9 ± 0.1	91.3 ± 0.3	93.1 ± 0.1	61.2 ± 0.2	3.3 ± 0.0

TS = solidi totali; VS = solidi volatili; U = umidità; C/N = rapporto carbonio/azoto.

3.3.2 Effetto delle fecce di vino sulla produzione di bioidrogeno dai residui vegetali

Le produzioni di bioidrogeno ottenute dai VR utilizzando le fecce di vino come inoculo dopo 60 giorni di dark fermentation sono riportate in Fig. 3.1a. La resa cumulativa di idrogeno (CHY) più elevata, pari a circa 350 mL H₂/g VS (Fig. 3.1a e Tab. 3.3), è stata ottenuta in WLZ ed è risultata simile a quelle raggiunte in WLE, WLRT, WLGT e WLP (ossia, rispettivamente 344, 319, 314 e 302 mL H₂/g VS) (Fig. 3.1a). WLGB e WLBP hanno raggiunto una CHY di circa 170 e 149 mL H₂/g VS (Fig. 3.1a), rispettivamente, valori inferiori rispetto a quelli osservati in WLE, WLRT, WLGT e WLP (Fig. 3.1a). Studi precedenti hanno evidenziato una diminuzione della produzione di idrogeno nei sistemi fermentativi dopo 60 giorni, indipendentemente dal tipo di acque reflue e dalla temperatura impiegata (Romão et al., 2019).

Il presente rappresenta il primo studio che valuta il potenziale biochimico di produzione di idrogeno (BHP) di ciascun VR, ossia pomodori rossi e verdi, peperoni, fagiolini, zucchine, piselli e melanzane. L'unico studio disponibile sulla dark fermentation di scarti di pomodoro è stato pubblicato di recente, e ha riportato soltanto la percentuale di bio-H₂ nel biogas risultante. In effetti, Mahmoodi-Eshkaftaki et al. (2023) hanno mostrato che il pretrattamento degli scarti di pomodoro con ultrasuoni porta a un incremento della produzione di bioidrogeno fino a circa il 29% (Tab. 3.3), valore inferiore rispetto al bio-H₂ ottenuto nel presente studio in WLRT (ossia, circa 84%, Fig. 3.1b), indicando così l'efficacia e la convenienza economica delle fecce di vino rispetto ai pretrattamenti ultrasonici, che possono inoltre comportare un bilancio energetico negativo (Zieliński et al., 2019).

La Fig. 3.1b suggerisce che un pH ottimale (ossia, 5,5–6,0), l'assenza di microrganismi consumatori di H₂ (Fig. 3.3a), le condizioni batch e la diminuzione della pressione parziale di H₂ (mediante la rimozione continua del biogas) abbiano probabilmente determinato una riduzione delle percentuali di CO₂ nel biogas prodotto (ossia, circa 13–18%). Ciò ha molto probabilmente migliorato il potere calorifico del biogas grazie a una maggiore concentrazione di altri componenti combustibili (ossia, bio-H₂ > 80%, Fig.

3.1b). Analogamente, Chen et al. (2010) hanno ottenuto un contenuto di H_2 fino a circa l'88% nel biogas risultante utilizzando un processo fermentativo migliorato. Tali vantaggi derivanti dall'uso delle fecce di vino possono rendere il biogas più sostenibile come fonte energetica e contribuire ad aumentarne competitività ed efficienza, riducendo i costi di purificazione (ossia, circa 168,00 \$/100 m³ per batch) (Vatsala et al., 2008).

Confrontando inoltre i risultati di questo studio (Fig. 3.1a) con i valori di BHP di substrati simili riportati in letteratura, emerge chiaramente che le CHY ottenute nei test qui condotti sono maggiori. La CHY riportata da Guo et al. (2014) per substrati ricchi di carboidrati e proteine, rifiuti agroindustriali e prodotti finali era pari rispettivamente a 155, 6, 42 e 29 mL H_2 /g TS (Tab. 3.3). I valori di CHY riportati da Ghimire et al. (2015) per letame di bufalo, sangue essiccato, scarti di finocchio, acque di frantoio e scarti di patate e zucca erano compresi tra circa 46 e 171 mL H_2 /g VS (Tab. 3.3). Panin et al. (2021) hanno dimostrato una CHY per scarti vegetali triturati, come broccoli, cipolla e patata dolce, compresa tra 27 e 152 mL H_2 /g VS (Tab. 3.3).

La produzione di bio- H_2 può essere influenzata dal tipo di substrato in termini di contenuto di carboidrati e biodegradabilità, così come dal metabolismo microbico, che influisce sui percorsi fermentativi e sulle rese finali di bioidrogeno. Prodotti di scarto come residui alimentari, ortaggi o rifiuti da cucina, caratterizzati da un alto contenuto di carboidrati, tendono a produrre quantità maggiori di H_2 (Panin et al., 2021). Al contrario, prodotti di scarto con un elevato contenuto proteico, come i rifiuti di macello (in cui l'azoto rappresenta il 48% dei TS) e materiali lignocellulosici ricchi di cellulosa, emicellulosa e lignina, tendono a mostrare CHY inferiori (Karrabi et al., 2023). I microrganismi produttori di bio- H_2 appartenenti a colture pure presentano un notevole biopotenziale, ma il loro impiego è limitato nelle applicazioni su scala commerciale (Pengadeth et al., 2024).

Data la natura dei VR, deve avvenire un processo di idrolisi prima che la materia organica possa essere fermentata dai microrganismi anaerobici. Pertanto, è necessaria una coltura microbica mista con un ampio spettro di attività enzimatiche e metaboliche per affrontare la complessità di tali residui (Mohanakrishna e Pengadeth, 2024). È stato dimostrato che le colture miste, comprendenti fango anaerobico, presentano un'elevata capacità di biodegradare in modo efficiente altri scarti vegetali e di produrre bioidrogeno (Ghimire et al., 2015a). Tuttavia, il principale problema può essere la presenza di batteri consumatori di idrogeno, richiedendo quindi un pretrattamento per sopprimerli, con conseguente aumento dei costi (Soares et al., 2020).

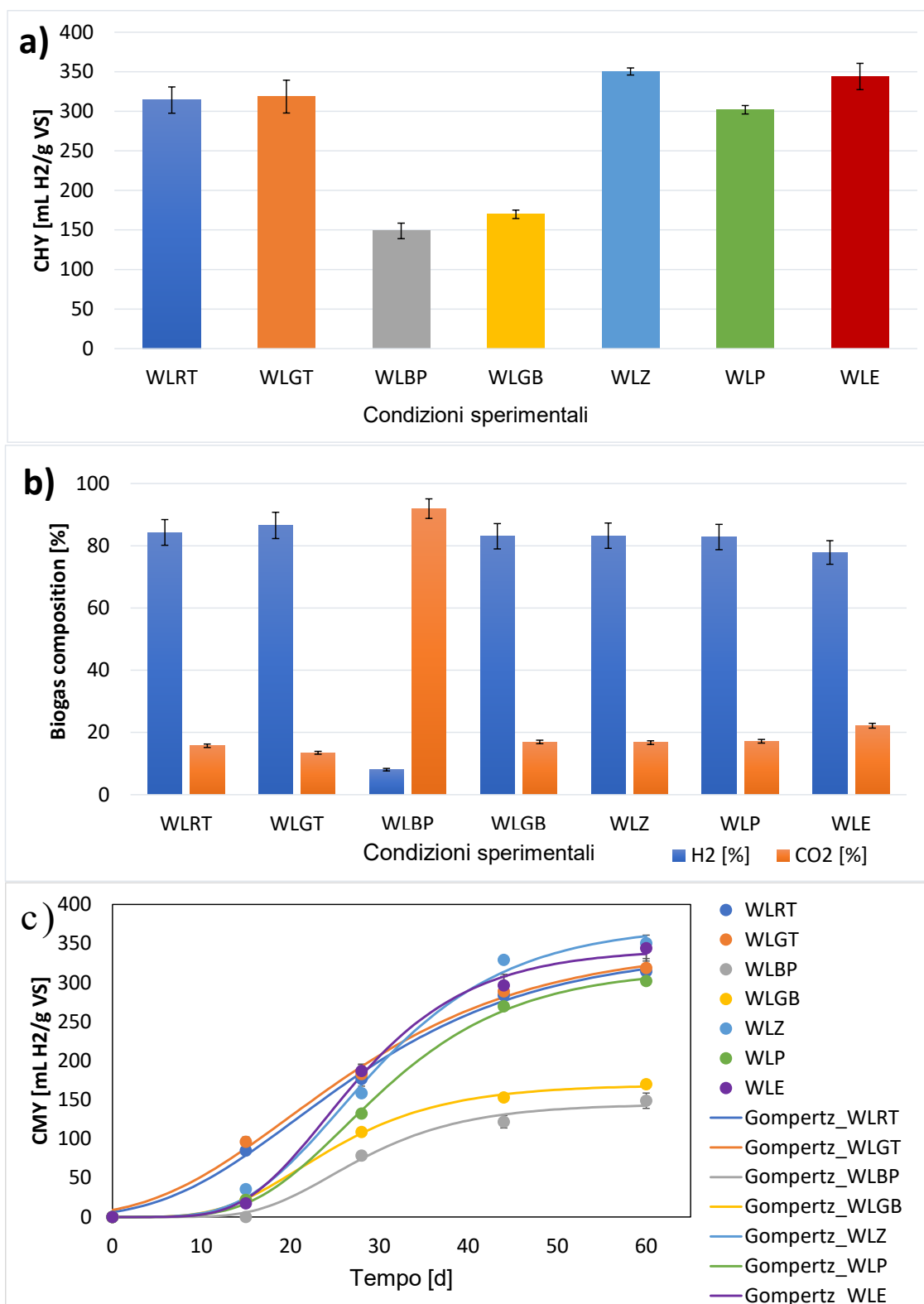


Figura 3.1 - a) Rese cumulative di idrogeno (CHY, mL H₂/g VS); b) caratterizzazione del biogas dopo 60 giorni di test di potenziale biochimico di produzione di idrogeno (BHP); e c) andamento della CHY rispetto al modello di Gompertz modificato durante 60 giorni di test BHP. I valori medi sono stati ottenuti su tre repliche.

Al contrario, le fecce di vino sono in grado di aumentare la frazione solubile delle proteine, ad esempio in WLP, grazie a meccanismi autolitici (Balmaseda et al., 2024), migliorando la fermentazione anaerobica (Fig. 3.1a) e senza richiedere alcun pretrattamento. Inoltre, la presenza di batteri acidogenici principalmente coinvolti nell'accumulo di VFA (vedi Sezione 3.3.1) e di specie di *Clostridium* potrebbe essere associata ad alte rese di idrogeno (Fig. 3.3a). Coerentemente, i geni K00532, K00533, K00169, K00198, K06281 e K06282, direttamente correlati alla produzione di H₂, hanno mostrato un'elevata abbondanza relativa come evidenziato in Fig. 3.3c (Kim e Cho, 2025).

3.3.3 Cinetiche BHP: modelli di Gompertz modificato e Logistico

I punti sperimentali di CHY ottenuti dai VR utilizzando le fecce di vino come inoculo dopo 60 giorni di test BHP (Fig. 3.1c) sono stati adattati sia al modello di Gompertz modificato sia al modello Logistico, al fine di stimare i parametri cinetici, i cui risultati sono riportati nella Tab. 3.2.

Secondo i parametri statistici (Tab. 3.2), il modello di Gompertz modificato ($\text{Adj. } R^2 = 0,981\text{--}0,998$) ha descritto meglio la CHY dei VR rispetto all'equazione Logistica modificata ($\text{Adj. } R^2 = 0,962\text{--}0,999$). Ciò è in accordo con studi precedenti che hanno modellato il BHP di scarti di frutta e verdura mediante la cinetica di Gompertz modificata (Keskin et al., 2018). Pertanto, sono stati ricavati i valori della fase di latenza (λ), della massima velocità di produzione di idrogeno (R_H) e della resa ultima di idrogeno ($H_{2,u}$), e i valori ottenuti di $H_{2,u}$ hanno rispecchiato i dati sperimentali reali (Fig. 3.1a), come indicato dal coefficiente di determinazione prossimo a 1 (Tab. 3.2).

I campioni BHP hanno mostrato una crescita sigmoide classica (Fig. 3.1c). Generalmente, i consorzi microbici sperimentano un periodo di acclimatazione dovuto alle nuove condizioni, seguito da una fase esponenziale e, infine, da un plateau (Fig. 3.1c) (Pinto et al., 2022). Il valore di λ è risultato inferiore in WLRT e WLGT (ossia, circa 20,7 e 19,8 giorni, rispettivamente) rispetto agli altri VR (Tab. 3.2), suggerendo che i substrati a base di pomodoro fossero facilmente fermentabili (Martínez-Mendoza et al., 2022). Allo stesso modo, Li et al. (2018) hanno ottenuto una fase di latenza più breve durante la digestione anaerobica di residui di pomodoro rispetto agli scarti di melanzana. Ciò è probabilmente dovuto al contenuto di zuccheri presente nel substrato. Infatti, le molecole organiche solubilizzate non richiedono una fase di idrolisi, che comporta la secrezione di enzimi da parte dei microrganismi per biodegradare il substrato sospeso (Mohanakrishna e Pengadeth, 2024).

Le rese ultime di idrogeno ($H_{2,u}$) pari a circa 341, 345, 144, 169, 374, 318 e 343 mL H_2 /g VS sono state ottenute rispettivamente per WLRT, WLGT, WLBP, WLGB, WLZ, WLP e WLE, con corrispondenti valori di R_H pari a 0,067, 0,065, 0,121, 0,113, 0,095, 0,095 e 0,112 mL H_2 /g VS·d (Tab. 3.2). Le rese più basse di $H_{2,u}$ osservate in WLBP e WLGB (Tab. 3.2) potrebbero essere attribuite a specifiche caratteristiche dei substrati.

Tabella 3.2 – Modellazione matematica della CHY (mL H₂/g VS) ottenuta dai residui vegetali (VR) durante 60 giorni di test BHP.

Modello	Parametri cinetici	WLRT	WLGT	WLBP	WLGB	WLZ	WLP	WLE
<i>Gompertz</i>	λ (d)	20.698 ± 1.336	19.799 ± 1.632	24.614 ± 1.686	21.068 ± 0.564	25.542 ± 1.401	26.244 ± 0.624	23.959 ± 0.869
	R_H (mL H ₂ /g VS·d)	0.067 ± 0.010	0.065 ± 0.011	0.121 ± 0.039	0.113 ± 0.010	0.095 ± 0.020	0.095 ± 0.009	0.112 ± 0.016
	$H_{2,u}$ (mL H ₂ /g VS)	341.222 ± 18.620	345.485 ± 22.552	144.348 ± 10.188	169.09 6 ± 3.714	373.511 ± 23.265	317.79 9 ± 9.087	342.820 ± 12.270
	Adj. R ²	0.994	0.991	0.981	0.998	0.990	0.998	0.995
	λ (d)	25.626 ± 1.840	24.916 ± 2.297	27.010 ± 1.600	24.583 ± 0.969	29.182 ± 0.384	29.750 ± 0.543	26.882 ± 1.335
	R_H (mL H ₂ /g VS·d)	0.112 ± 0.020	0.109 ± 0.023	0.294 ± 0.270	0.186 ± 0.029	0.163 ± 0.010	0.160 ± 0.013	0.205 ± 0.066
<i>Logistic</i>	$H_{2,u}$ (mL H ₂ /g VS)	319.871 ± 16.682	324.517 ± 20.752	136.036 ± 9.782	164.09 4 ± 5.308	354.938 ± 4.562	301.43 1 ± 5.417	326.485 ± 16.596
	Adj. R ²	0.988	0.982	0.962	0.992	0.999	0.999	0.983

I parametri cinetici λ , R_H , $H_{2,u}$ e il coefficiente di determinazione corretto (R^2 adj) si riferiscono ai modelli di Gompertz modificato e Logistico.

Confrontando due substrati simili, ossia fagiolini e piselli, questi ultimi possono contenere una quantità maggiore di metalli in traccia (ad esempio molibdeno e selenio), che possono migliorare la produzione di biogas, come recentemente dimostrato da Borowski et al. (2023). Inoltre, i peperoni sono ricchi di composti polifenolici e capsaicina, che possono inibire la fermentazione anaerobica. La capsaicina può influenzare negativamente la produzione di biogas riducendo l'attività relativa dei microrganismi durante la fase di acidogenesi di circa il 30%, probabilmente a causa di processi di apoptosi che modificano le chinasi chiave o riducono il rapporto intracellulare $NAD^+/NADH$ (Du et al., 2021). D'altra parte, i polifenoli non sembrano essere coinvolti nell'inibizione del processo di dark fermentation.

Innanzitutto, i microrganismi presenti nelle fecce di vino erano probabilmente già acclimatati alla presenza di composti polifenolici nel vino. Inoltre, Zupančič et al. (2024) hanno recentemente riportato che i polifenoli non hanno inibito la resa di biogas derivante dagli scarti di peperone, e la loro concentrazione è diminuita durante la digestione anaerobica. Poiché i metanogeni risultano più sensibili agli inibitori rispetto ai batteri acidogenici, i fenomeni di inibizione dovuti ai polifenoli erano improbabili.

3.4 Produzione e biovalorizzazione degli acidi grassi volatili (VFA)

In questa sezione vengono analizzati i profili dei VFA generati durante la dark fermentation e discusse le potenzialità di biovalorizzazione degli stessi attraverso la successiva digestione anaerobica per la produzione di biometano.

3.4.1 Accumulo di VFA e vie di produzione del bioidrogeno durante la dark fermentation.

L'accumulo di VFA in WLRT, WLGT, WLBP, WLGB, WLZ, WLP e WLE dopo 60 giorni di dark fermentation è mostrato in Fig. 3.2a. Una produzione totale di VFA di circa 3939, 3893, 3461, 2059, 4995, 4469 e 2712 mg HAc/L (Fig. 3.2a) è stata ottenuta rispettivamente in WLRT, WLGT, WLBP, WLGB, WLP, WLZ e WLE. Analogamente, Keskin et al. (2018) hanno riportato un accumulo totale di VFA nei test BHP di scarti di frutta e verdura compreso tra 2900 e 6500 mg/L.

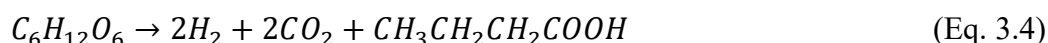
In generale, il principale VFA rilevato in questo studio è stato l'acido acetico (ossia, fino a circa 2348 mg HAc/L, Fig. 3.2a), mentre gli altri VFA individuati comprendevano

acidi propionico, iso-butyrico e butyrico, che insieme rappresentavano circa il 75–95% della produzione totale di VFA (Fig. 3.2a). È probabile che sia avvenuta l’allungamento della catena, un meccanismo fermentativo secondario in cui un acido carbossilico a catena corta può essere esteso mediante successive aggiunte di 2 atomi di carbonio, con l’acido lattico (ossia, 0,23–1,92 g/L, Fig. 3.2b) che funge da donatore di elettroni (Lanfranchi et al., 2025). Infatti, l’acido acetico è stato probabilmente allungato a butyrico e successivamente a caproico, mentre l’acido propionico è stato convertito in valerico e poi in eptanoico (Fig. 3.2a).

Il leggero accumulo di acidi valerico e caproico (ossia, 57–391 e 0–311 mg HAc/L) (Fig. 3.2a) è stato probabilmente associato alla successiva elongazione dell’acetato. Allo stesso modo, Dessì et al. (2024) hanno riportato che circa 1,1 mol di acido acetico possono essere utilizzati per ottenere 1 mol di acido caproico, e quindi, nel presente studio, circa 342 mg HAc/L di acido acetico sarebbero stati verosimilmente consumati per produrre 311 mg HAc/L di acido caproico. Inoltre, le concentrazioni di acidi valerico ed eptanoico (ossia, 57–391 e 0–65 mg/L, Fig. 3.2a) confermano ulteriormente l’allungamento del propionato.

Il processo di elongazione della catena può essere sostenuto dalla presenza di un produttore di butirrato (*Caproiciproducens*) e di un produttore di lattato (*Levilactobacillus*) nella comunità microbica (Fig. 3.3a) (Lanfranchi et al., 2025). Altri generi, come *Bacillus* e *Weissella*, probabilmente hanno contribuito ulteriormente alla produzione di VFA (Fig. 3.3a, vedi Sezione 4.3.4).

Il pH è rimasto relativamente stabile, con valori di circa 5,7–6,1; 5,8–5,9; 5,4–5,5; 5,5–5,7; 5,5–5,6; 5,7–5,8 e 5,6–5,7 (dati non mostrati) rispettivamente in WLRT, WLGT, WLE, WLGB, WLP, WLZ e WLBP. I valori di pH bassi e le alte concentrazioni di acido acetico avrebbero favorito un’elevata produzione di bioidrogeno, poiché il consumo di bio-H₂ attraverso la via omoacetogenica era improbabile (Bastidas-Oyanedel et al., 2012). Inoltre, è probabile che fosse coinvolta la via acetato-butyrrato a causa delle condizioni di pH acido, generalmente associate a un’elevata produzione di bioidrogeno (Ghimire et al., 2015b). In effetti, secondo un bilancio stechiometrico, la produzione di bioidrogeno può avvenire come segue (Al-Haddad et al., 2023):



Attraverso la via dell’acetato (Eq. 3.3), dovrebbero formarsi stechiometricamente 4 mol di bio-H₂ per mol di glucosio, un valore superiore a quello ottenibile tramite la via del butirrato (Eq. 3.4). Pertanto, assumendo che le Eq. 3.3 e 3.4 siano le vie principali coinvolte, si potrebbero ottenere stechiometricamente 4 mol H₂/mol (acido acetico +

butirrico), valore superiore rispetto alle rese di 0,61–2,08 mol H₂/mol (acido acetico + butirrico) qui osservate. Ciò è probabilmente dovuto alla conversione del glucosio in materia organica residua contenente prodotti finali non ulteriormente convertibili in bio-H₂ e/o che consumano H₂ durante la loro formazione, come gli acidi propionico ed eptanoico (ossia, 1 mol H₂ per mol di acido propionico/eptanoico) (Lalaurette et al., 2009; Sreethawong et al., 2010).

Inoltre, il rapporto (n-butyrico + butirrico)/acetico, pari a circa 0,3–1,1 nella maggior parte delle condizioni, rientrava nell'intervallo ottimale riportato per la produzione di bioidrogeno (Sillero et al., 2022). In effetti, un elevato rapporto (n-butyrico + butirrico)/acetico (ossia, circa 15,8) è stato osservato in WLGB, dove è stata registrata la CHY più bassa (Fig. 3.1a), probabilmente a causa dell'allungamento dell'acido acetico tramite una via enzimatica nota come β -ossidazione inversa. In questo pathway, l'acido lattico (ossia, 0,23–1,92 g/L, Fig. 3.2b) può agire come donatore di elettroni e venire prima convertito in acetyl-CoA, generando successivamente un acido carbossilico C_{n+2} (Palomo-Briones et al., 2022).

3.4.2 Produzione di biometano dall'effluente ricco di VFA

L'effluente di dark fermentation, ricco di VFA, è stato bioconvertito in metano tramite digestione anaerobica dal giorno 61 al giorno 147, e i risultati sono illustrati in Fig. 3.2c. Valori di resa cumulativa di metano (CMY) pari a 1489, 1147, 981, 899, 784, 745 e 588 mL CH₄/g VS (Fig. 3.2c e Tab. 3.3) sono stati ottenuti rispettivamente in DP, DZ, DE, DRT, DBP, DGT e DGB.

Il pH è rimasto relativamente stabile, con valori di circa 5,7–6,1; 5,8–5,9; 5,4–5,5; 5,5–5,7; 5,5–5,6; 5,7–5,8 e 5,6–5,7 (dati non mostrati) in WLRT, WLGT, WLE, WLGB, WLP, WLZ e WLBP, rispettivamente. Questi valori di pH risultano coerenti con l'intervallo ottimale per la digestione anaerobica, compreso tra 6 e 8 (Zhou et al., 2016).

Considerando studi precedenti, la fermentazione anaerobica a due stadi (Fig. 3.2c) ha mostrato vantaggi significativi nella resa di biogas rispetto a un processo a singolo stadio. Zupančič et al. (2024) hanno recentemente riportato una CMY di circa 401 mL CH₄/g TS dopo test BMP su scarti della lavorazione dei peperoni (Tab. 3.3). Borowski et al. (2023) hanno ottenuto una produzione di biometano di circa 336 mL CH₄/g VS da una miscela di rifiuti vegetali (ad esempio, fagiolini e piselli, Tab. 3.3). Li et al. (2018) hanno mostrato una resa di bio-CH₄ di circa 167 e 215 mL CH₄/g VS (Tab. 3.3) da residui di melanzane e pomodori, rispettivamente. Ciò può essere attribuito al processo a due stadi, che consente condizioni operative ottimali per i microrganismi coinvolti (ad esempio, pH e substrato disciolto, Tab. 3.3). Di conseguenza, la fermentazione anaerobica a due stadi

risulta più adeguata per la produzione di bioenergia e per la stabilità del processo biologico.

La produzione di biometano è stata molto probabilmente ottenuta tramite la via dell'acetoclastica metanogenesi (ossia, scissione dell'acetato in metano e anidride carbonica), poiché un'elevata produzione di VFA ha portato a un aumento della resa di bio-CH₄, come mostrato anche da Weide et al. (2019). Infatti, nei test BMP è stata rilevata un'elevata abbondanza relativa (in % degli Archea) del genere *Methanosaeta* (Fig. 3.3b) (vedi Sezione 3.4). Inoltre, è stata osservata una maggiore abbondanza (Fig. 3.3d) dei geni funzionali K00925, K00625 e K01895 (ossia, via dell'acetato) rispetto a K00320 e K03388 (ossia, via della CO₂) durante la digestione anaerobica (Sganzerla et al., 2023). Ciò è ulteriormente confermato da una correlazione di Pearson pari a 0,778 tra le concentrazioni iniziali di VFA e le CMY (Fig. 3.2e). Le basse concentrazioni finali di VFA (ossia, 12–131 mg HAc/L, Fig. 3.2d) ottenute dopo la fase di digestione anaerobica supportano ulteriormente tali risultati.

Sebbene il bioidrogeno prodotto nella prima fase non fosse più disponibile per la via idrogenotrofa, poiché il processo è stato condotto come strategia a due stadi e separato spazialmente, la presenza di Archea *Methanoculleus* in DGT, DBP e DGB (Fig. 3.3b) suggerisce la produzione di metano anche tramite la via idrogenotrofa.

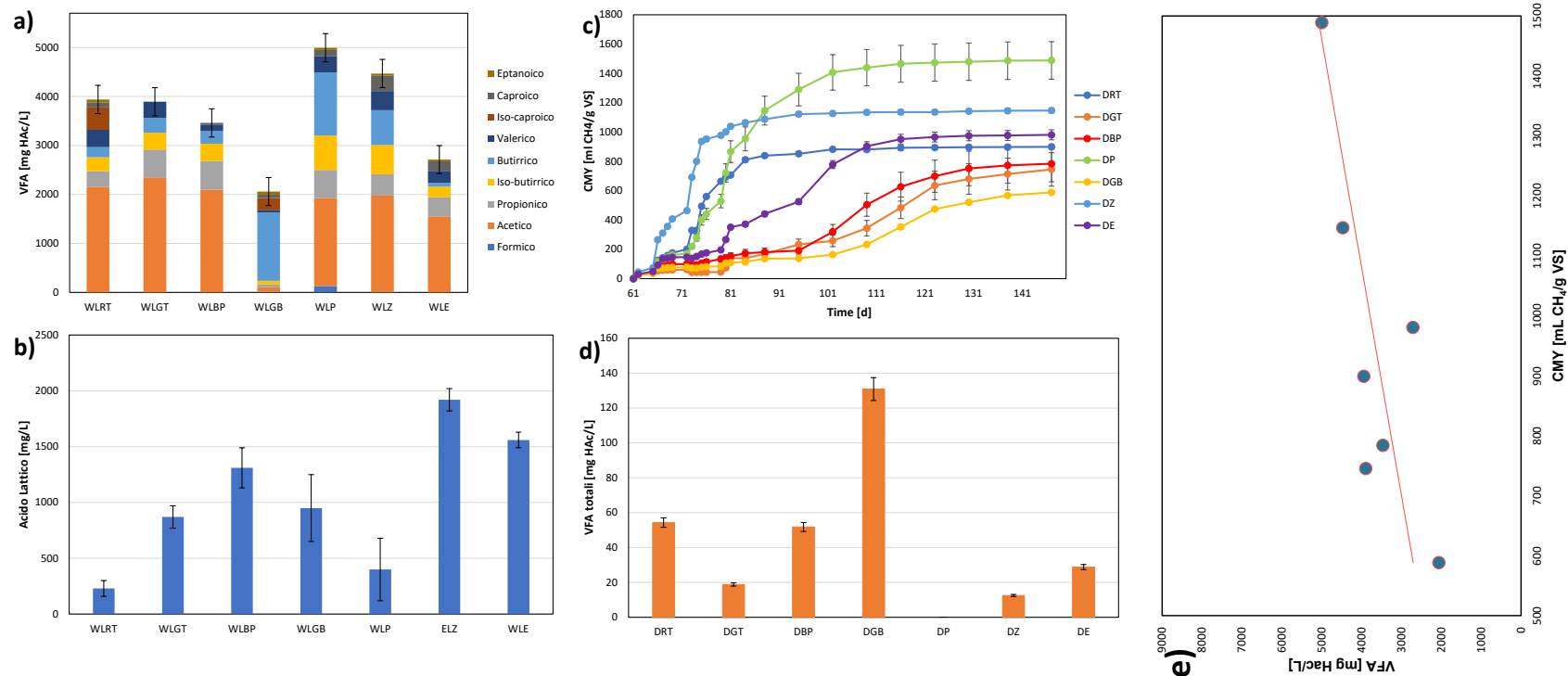


Figura 3.2 – a) Accumulo totale di acidi grassi volatili (VFA, mg HAc/L) e b) concentrazioni di acido lattico (mg/L) dopo 60 giorni di test di potenziale biochimico di produzione di idrogeno (BHP); c) rese cumulative di metano (CMY) tra i giorni 61 e 147 del processo di digestione anaerobica; d) concentrazione totale di VFA dopo la fermentazione anaerobica a due stadi; e) correlazione di Pearson tra VFA e CMY.

Tabella 3 – Confronto con la letteratura scientifica.

Substrato	Inoculo	Temperatura	pH	Setup	Biogas	Referenze
Scarti del pomodoro	Co-digestione con letame da bovino	—	—	pretrattamento ultrasonico a 0.34 W/mL per 15 min	Fino a 29% (bio-H ₂ contenuto)	(Mahmoodi-Eshkaftaki et al., 2023)
Rifiuti agro-industriali	Fango pretrattato (at 90 °C fper 10 min)	37 °C	5.5	BHP test, omogenizzazione meccanica	1 – 224 mL H ₂ /g TS	(Guo et al., 2014)
Rifiuti agro-industriali	Fango pretrattato (BESA)	35 ± 1 °C	6.8 – 7.4	BHP tests	6 – 155 mL H ₂ /g TS	(Ghimire et al., 2015b)
Rifiuti vegetali	Microflora arricchita	35 °C	7.0	BHP test, pretrattamento termico e meccanico a 105 °C per 24 h	27 – 152 mL H ₂ /g VS	(Panin et al., 2021)
Rifiuti vegetali da cucina	Fango da depurazione	55 °C	5.5 – 7.0	BHP test, omogenizzazione meccanica	11 mL H ₂ /g VS, fino a 73% (bio-H ₂ contenuto)	(Lee et al., 2008)
Frutta, vegetali e siero del latte	Inoculo anaerobico	37 °C	5.5	Reattore Batch	450 mL/g COD	(Gomez-Romero et al., 2014)
Rifiuti da peperoni	—	37 °C	—	BHP test, omogenizzazione meccanica	401 mL CH ₄ /g TS	(Zupančič et al., 2024)
Mix di rifiuti vegetali	Fango da depurazione	35 °C	6.8 – 7.2	Batch test	336 mL CH ₄ /g VS	(Borowski et al., 2023)
Residui di melanzane e pomodori	Digestato anaerobico	36 ± 1 °C	7.5 – 7.7	BHP test, pretrattamento termico e meccanico a 105 °C	167 – 215 mL CH ₄ /g VS	(Li et al., 2018)
Rifiuti da zuccheri	Digestato pretrattato (a 80 °C per 2 h)	40 °C	7.0	Reattore Batch-H ₂ , BMP test, termico (at 90 °C for 1 h)	199 – 291 mL H ₂ /g TS, 240 – 311 mL CH ₄ /g TS	(Weide et al., 2019)

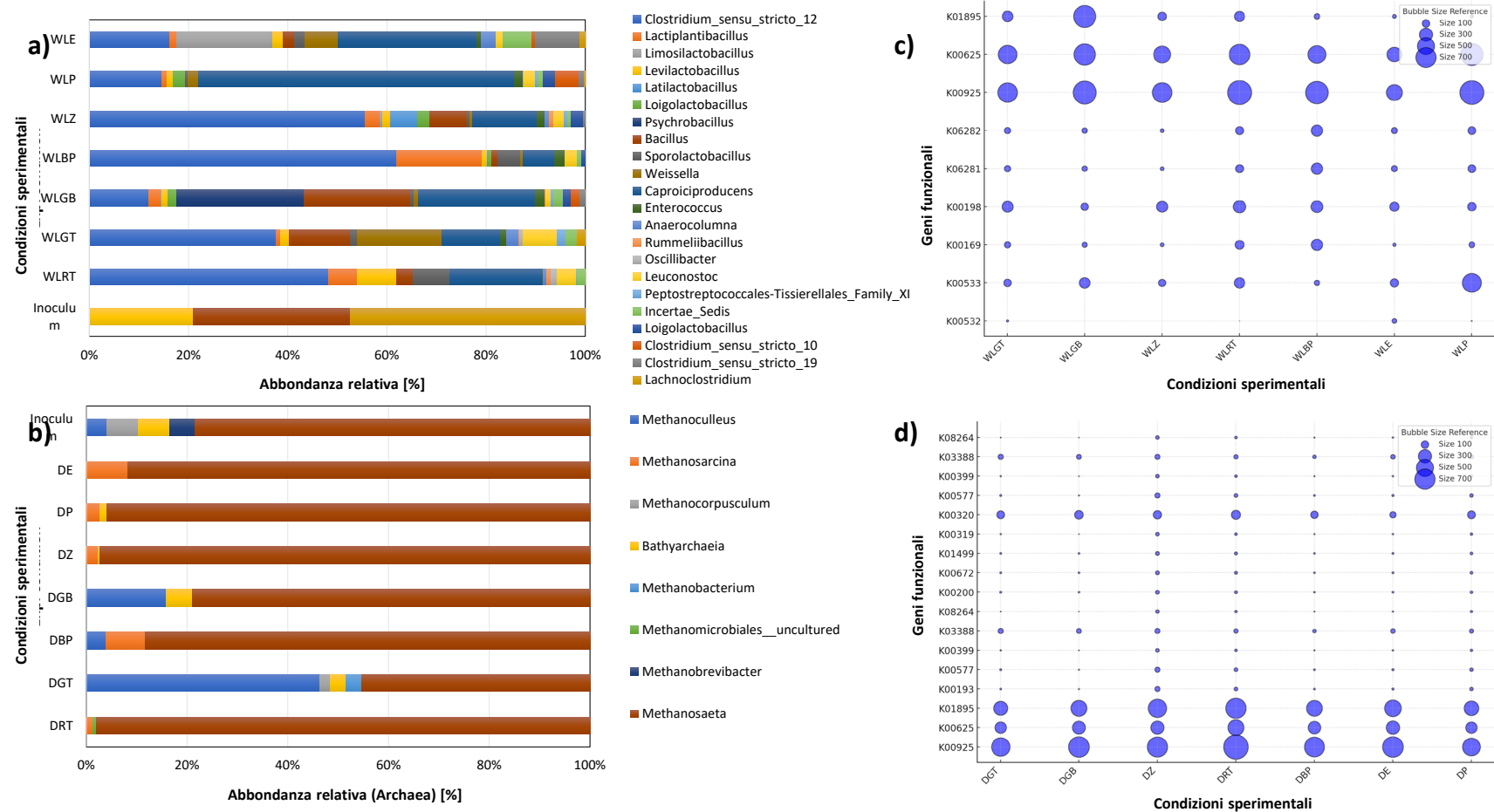


Figura 3.3 – Comunità microbica a livello di genere (a, b) e grafici a bolle rappresentanti i geni funzionali (c, d) dopo la fermentazione e la gestione anaerobica, rispettivamente.

3.5 Effetto della variazione del substrato sulla struttura della comunità microbica

3.5.1 Dark fermentation

La classificazione tassonomica ottenuta nell'inoculo e nei campioni WLRT, WLGT, WLBP, WLGB, WLZ, WLP e WLE a livello di genere dopo 60 giorni di dark fermentation è mostrata in Fig. 3.3a.

Le fecce di vino, proposte come nuovo inoculo per la produzione di bio-H₂ dai VR, sono state caratterizzate da un'abbondanza relativa di circa 21, 47 e 32% (Fig. 3.3a) dei generi *Levilactobacillus*, *Lachnoclostridium* e *Bacillus*, rispettivamente. Sebbene queste specie non producano idrogeno direttamente, il genere *Levilactobacillus* partecipa alla fermentazione attraverso la generazione di acido lattico (ossia, 0,23–1,92 g/L, Fig. 3.2b) e l'assistenza ai batteri produttori di idrogeno (Balmaseda et al., 2024). Il genere *Bacillus* degrada composti organici complessi in zuccheri semplici che i generi *Clostridium* possono successivamente metabolizzare per produrre H₂ (Al-Haddad et al., 2023).

Infatti, la produzione di bioidrogeno aumenta quando *Lachnoclostridium*, un genere qui rilevato nelle fecce di vino, utilizza molteplici prodotti fermentativi come fonti di carbonio. Inoltre, i generi *Clostridium* e *Lactobacillus* sono stati recentemente individuati nelle fecce di vino in relazione alla produzione di acidi acetico e caproico (Dessì et al., 2024; Lanfranchi et al., 2025).

È interessante notare che, in presenza di VR, la comunità microbica si è spostata verso i generi *Clostridium_sensu_stricto_12* e *Caproiciproducens*, che rappresentavano complessivamente circa il 44–78% dell'abbondanza relativa totale (Fig. 3.3a).

La ricchezza batterica del genere *Clostridium_sensu_stricto_12* è risultata pari a circa 48, 38, 12, 62, 56, 15 e 16% (Fig. 3.3a) rispettivamente in WLRT, WLGT, WLGB, WLBP, WLZ, WLP e WLE. Questo genere è in grado di produrre bio-H₂ tramite l'ossidazione del piruvato, generando sottoprodotti quali acido acetico, butirrico e altri VFA (Fig. 3.2a) (Ghimire et al., 2015a). Pertanto, la presenza del genere *Clostridium_sensu_stricto_12* può essere generalmente associata a un miglioramento delle rese di bioidrogeno (Fig. 3.1a) (Tang et al., 2022).

L'abbondanza relativa del genere *Caproiciproducens* è risultata pari a circa 19, 12, 6, 13, 64 e 28% (Fig. 3.3a) rispettivamente in WLRT, WLGT, WLGB, WLBP, WLZ, WLP e WLE. Il genere *Caproiciproducens* ha probabilmente potenziato la produzione

fermentativa di H₂ degradando sostanze organiche per produrre composti energetici come acidi acetico, butirrico e caproico tramite meccanismi di allungamento della catena (Fig. 3.2a) (Zagrodnik et al., 2020).

In effetti, il maggiore accumulo di VFA (Fig. 3.2a) è stato associato alla più alta abbondanza del genere *Caproiciproducens* (Fig. 3.3a), osservata in WLP.

Analogamente ai generi *Bacillus* e *Levilactobacillus* (ossia, circa 1–21%) (Fig. 3.3a), altri generi microbici, come *Weissella* (circa 1–17%), *Leuconostoc* (circa 1–7%) e *Lactiplantibacillus* (circa 1–17%) (Fig. 3.3a), sono stati probabilmente coinvolti nella degradazione dei carboidrati finalizzata alla produzione di acidi organici, supportando altri batteri produttori di H₂. Questi generi sono comunemente riportati in letteratura come presenti in alimenti vegetali fermentati (Thierry et al., 2023).

3.5.2 Digestione anaerobica

La distribuzione degli archea a livello di genere, ottenuta nell'inoculo e dopo la fermentazione anaerobica a due stadi, è riportata in Fig. 3.3b. In questo studio, gli archea più abbondanti appartenevano al genere *Methanosaeta* (conosciuto anche come *Methanothrix*), con un'abbondanza relativa di circa 98, 45, 88, 79, 97, 96 e 92% (Fig. 3.3b) rispettivamente in DRT, DGT, DBP, DGB, DZ, DP e DE, generalmente superiore rispetto all'inoculo (ossia, circa 78%, Fig. 3.3b).

Questo risultato può essere spiegato dal fatto che, in ambienti con elevate concentrazioni di VFA, gli archea *Methanosaeta* possono contribuire a migliorare la produzione di biogas durante il trattamento dei rifiuti organici. Infatti, *Methanosaeta* utilizza l'acido acetico come unica fonte di carbonio per produrre metano e anidride carbonica (ossia, via acetoclastica; vedi Sezione 4.3.2) (Xiao et al., 2021). Pertanto, *Methanosaeta* tende a essere più abbondante nella fermentazione anaerobica a due stadi rispetto a quella a singolo stadio.

Tuttavia, una minore ricchezza di *Methanosaeta* è stata riscontrata in DGT (ossia, circa 45%) rispetto alle altre condizioni (Fig. 3.3b). Ciò potrebbe essere correlato a una minore CMY, probabilmente dovuta a un ridotto accumulo di VFA (Fig. 3.2e) (vedi Sezione 4.3.2).

D'altra parte, un'aumentata abbondanza relativa, pari a circa il 46%, del genere *Methanoculleus* è stata osservata in DGT rispetto a DRT, DBP, DGB, DZ, DP e DE (ossia, 0, 4, 16, 0, 0 e 0%, rispettivamente) (Fig. 3.3b).

È interessante notare che *Methanoculleus* è considerato un metanigeno idrogenotrofo, ossia un microrganismo che produce biometano utilizzando anidride carbonica e idrogeno come accettore e donatore di elettroni, rispettivamente (Treu et al., 2018). Di conseguenza, una parte del bio-CH₄ potrebbe essere stata generata a

partire dal bio-H₂ prodotto direttamente in DGT, senza accumulo intermedio di bioidrogeno.

L'abbondanza relativa di *Methanosarcina* è risultata pari a circa 1, 8, 2, 3 e 8% (Fig. 3.3b) in DRT, DBP, DZ, DP e DE, rispettivamente. *Methanosarcina* è nota come un metanigeno adattabile, in grado di seguire vie idrogenotrofiche, acetoclastiche e metilotrofiche (ossia, che utilizzano composti metilici come fonte di carbonio) per la produzione di biometano (Xiao et al., 2021). Questo genere può essere associato alle elevate concentrazioni di acido acetico, operando in modo efficiente a partire da concentrazioni di acetato di 0,3 mg/L (Xiao et al., 2021).

Pertanto, è stato dimostrato che i taxa chiave per la digestione anaerobica coesistevano all'interno dello stesso biosistema.

3.6 Bilancio energetico e valutazione complessiva

I risultati dei confronti energetici della fermentazione anaerobica a due stadi (ossia, dark fermentation e digestione anaerobica) sono mostrati in Fig. 3.4a. I valori di energia netta sono risultati tutti positivi (Fig. 3.4a), e i guadagni maggiori sono stati ottenuti con piselli, pomodori verdi, melanzane e zucchine (ossia, circa 25–47 kJ/g VS, Fig. 3.4a), suggerendo che l'energia richiesta per l'omogeneizzazione fosse inferiore rispetto a quella recuperata dal biogas.

In generale, i valori calorifici della dark fermentation sono risultati inferiori (ossia, al di sotto di 5 kJ/g VS, Fig. 3.4a) rispetto a quelli ottenuti durante la digestione anaerobica (ossia, circa 24–61 kJ/g VS, Fig. 3.4a). Considerando un apporto energetico compreso tra 14 e 17 kJ/g VS (Fig. 3.4a), l'assenza della fase di digestione anaerobica avrebbe portato a un rapporto energetico (E_o/E_i) inferiore a 1. Allo stesso modo, Córdova et al. (2018) hanno ottenuto un valore di (E_o/E_i) inferiore a 1 omogeneizzando *Chlorella sorokiniana* a 200 W per 20 minuti per migliorare la produzione di biogas.

La produzione di energia rinnovabile è stata associata a una riduzione della materia organica di circa 37–91% in termini di VS (Fig. 3.4b) dopo la fermentazione anaerobica a due stadi. Pertanto, sebbene questo approccio possa ridurre efficacemente la quantità di scarti vegetali producendo al contempo bioenergia, ulteriori pretrattamenti del substrato (ad esempio, alcalino, ultrasonico o termico) oppure la co-digestione di diversi VR (dato che essi vengono generati stagionalmente in estate, Tab. 3.3) potrebbero essere valutati in studi futuri.

In ogni caso, i valori calorifici ottenuti sono risultati superiori a quelli riportati in letteratura. Ad esempio, Weide et al. (2019) hanno ottenuto valori calorifici compresi

tra 8,0 e 9,5 kJ/g TS utilizzando rifiuti organici come substrato per un approccio a due stadi. Pertanto, il confronto energetico basato sui valori calorifici del biogas consente di comprendere la rilevanza dei VR e delle fecce di vino indagati, rivelando l'idoneità del procedimento impiegato.

Questo studio dimostra come l'impiego delle fecce di vino come nuovo inoculo per la dark fermentation possa essere vantaggioso per la produzione di bioidrogeno dai VR, portando alla formazione di un digestato ricco in VFA che può essere successivamente utilizzato nella fase successiva (ossia, digestione anaerobica) (Fig. 3.4c).

Successivamente, il substrato organico viene convertito in biogas e digestato, fornendo rispettivamente ulteriore energia rinnovabile (oltre al bio-H₂) e biofertilizzante (Fig. 3.4c).

I vantaggi di una fermentazione anaerobica a due stadi risiedono nella possibilità di mantenere condizioni operative ottimali grazie alla separazione delle fasi, nel miglioramento della degradazione dei VR associato a un'elevata produzione di biogas e nella maggiore stabilità del processo (Rajendran et al., 2020).

D'altra parte, ulteriori valutazioni dovrebbero essere considerate per analisi di prestazioni a lungo termine, a causa di potenziali criticità quali costi operativi, accumulo di ammoniaca, scalabilità del processo e differenti configurazioni di bioreattori (batch vs continuo).

L'aggiunta della ricircolazione dell'effluente può migliorare la capacità tampone nella fermentazione anaerobica a due stadi, limitando l'uso di agenti chimici necessari nel primo digestore a causa dell'accumulo di VFA che porta a fenomeni di acidificazione. Tale strategia può inoltre favorire una maggiore degradazione dei substrati grazie a una migliore regolazione del carico organico e comportare una riduzione del volume del digestore necessario per l'intero processo (Rajendran et al., 2020).

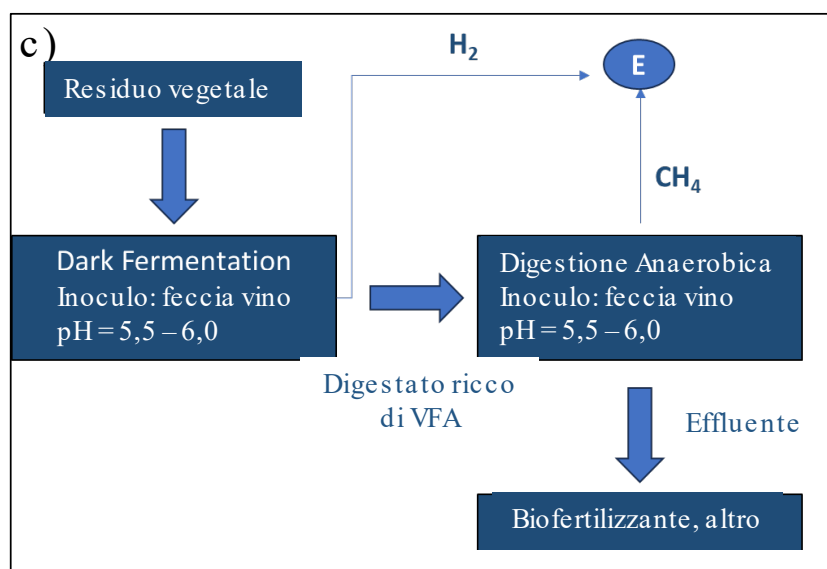
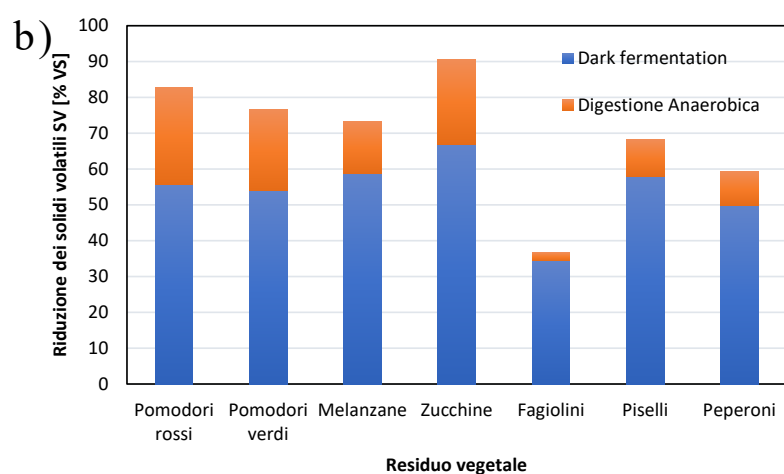
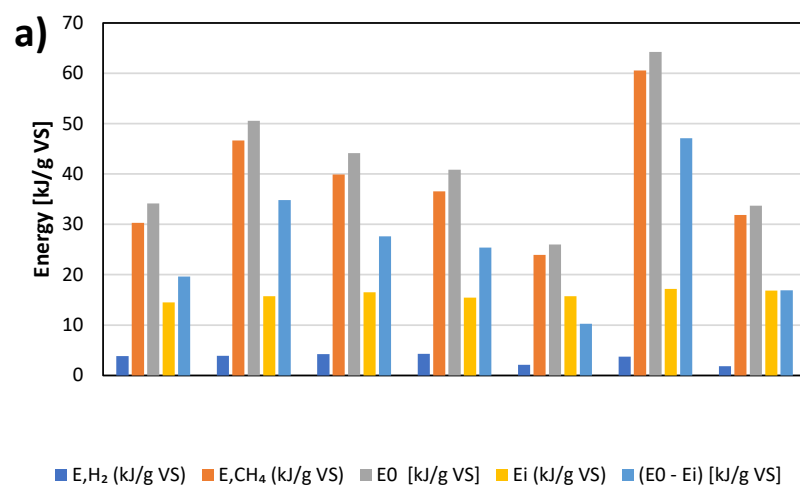


Figura 3.4 - a) Guadagno energetico netto ($E_0 = E_i$, kJ/g VS); b) conversione della materia organica (% VS); e c) schema di flusso della fermentazione anaerobica a due stadi.

3.7 Conclusioni

Per la prima volta, il presente studio ha dimostrato che il bio-H₂ può essere prodotto dai residui vegetali (VR) utilizzando le fecce di vino come nuova fonte di microrganismi per il processo di dark fermentation.

WLZ ha raggiunto una resa cumulativa di idrogeno (CHY) di circa 350 mL H₂/g VS, superiore rispetto a quelle ottenute in WLE, WLRT, WLGT, WLP, WLGB e WLBP (ossia, rispettivamente circa 344, 319, 314, 302, 170 e 149 mL H₂/g VS).

La generazione di VFA ottenuta, compresa tra circa 2712 e 4995 mg HAc/L, includeva acidi acetico, propionico, iso-butyrico e butirrico, rappresentando circa il 75–95% della produzione totale di VFA.

I VFA sono stati successivamente bioconvertiti, con un accumulo finale di 12–131 mg HAc/L, verosimilmente conducendo a valori di resa cumulativa di metano (CMY) di circa 1489, 1147, 981, 899, 784, 745 e 588 mL CH₄/g VS rispettivamente in DP, DZ, DE, DRT, DBP, DGT e DGB.

I microrganismi più abbondanti che hanno popolato la fermentazione anaerobica a due stadi sono risultati appartenere ai generi *Clostridium_sensu_stricto_12*, *Caproiciproducens* e *Methanosaeta*.

3.8 Bibliografia

- Al-Haddad, S., Okoro-Shekwaga, C.K., Fletcher, L., Ross, A., Camargo-Valero, M.A., 2023. Assessing Different Inoculum Treatments for Improved Production of Hydrogen through Dark Fermentation. *Energies* 16, 1233. <https://doi.org/10.3390/en16031233>
- APHA, 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd edition. Am. Public Heal. Assoc. Am. Water Work. Assoc. Water Environ. Fed. <https://doi.org/10.1520/E0536-16.2>
- Balmaseda, A., Miot-Sertier, C., Lytra, G., Poulain, B., Reguant, C., Lucas, P., Nioi, C., 2024. Application of white wine lees for promoting lactic acid bacteria growth and malolactic fermentation in wine. *Int. J. Food Microbiol.* 413, 110583. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110583>
- Bastidas-Oyanedel, J.-R., Mohd-Zaki, Z., Zeng, R.J., Bernet, N., Pratt, S., Steyer, J.-P., Batstone, D.J., 2012. Gas controlled hydrogen fermentation. *Bioresour. Technol.* 110, 503–509. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.122>
- Borowski, S., Cieciora-Włoch, W., Boniecki, P., Bednarek, A., 2023. Impact of Mineral Fertilizers on Anaerobic Digestion of Vegetable Waste. *BioEnergy Res.*

- 16, 2155–2167. <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10588-5>
- Chen, C.-Y., Yeh, K.-L., Lo, Y.-C., Wang, H.-M., Chang, J.-S., 2010. Engineering strategies for the enhanced photo-H₂ production using effluents of dark fermentation processes as substrate. *Int. J. Hydrogen Energy* 35, 13356–13364. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.11.070>
- Córdova, O., Passos, F., Chamy, R., 2018. Physical Pretreatment Methods for Improving Microalgae Anaerobic Biodegradability. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 185, 114–126. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2646-6>
- De Iseppi, A., Lomolino, G., Marangon, M., Curioni, A., 2020. Current and future strategies for wine yeast lees valorization. *Food Res. Int.* 137, 109352. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109352>
- Dessi, P., Romans-Casas, M., Perona-Vico, E., Tedesco, M., Hamelers, H.V.M., Bañeras, L., Dolors Balaguer, M., Puig, S., 2024. Membrane-based fermentation enables highly selective caproic acid production from wine lees. *Chem. Eng. J.* 497, 154539. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.154539>
- Du, M., Liu, X., Wang, D., Yang, Q., Duan, A., Chen, H., Liu, Y., Wang, Q., Ni, B.-J., 2021. Understanding the fate and impact of capsaicin in anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge. *Water Res.* 188, 116539. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116539>
- Gadhe, A., Sonawane, S.S., Varma, M.N., 2014. Ultrasonic pretreatment for an enhancement of biohydrogen production from complex food waste. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 7721–7729. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.03.105>
- Ghimire, A., Frunzo, L., Pirozzi, F., Trably, E., Escudie, R., Lens, P.N.L., Esposito, G., 2015a. A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. *Appl. Energy* 144, 73–95. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.01.045>
- Ghimire, A., Frunzo, L., Pontoni, L., D’Antonio, G., Lens, P.N.L., Esposito, G., Pirozzi, F., 2015b. Dark fermentation of complex waste biomass for biohydrogen production by pretreated thermophilic anaerobic digestate. *J. Environ. Manage.* 152, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.12.049>
- Gomez-Romero, J., Gonzalez-Garcia, A., Chairez, I., Torres, L., García-Peña, E.I., 2014. Selective adaptation of an anaerobic microbial community: Biohydrogen production by co-digestion of cheese whey and vegetables fruit waste. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 12541–12550. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.06.050>

- Guo, X.M., Trably, E., Latrille, E., Carrere, H., Steyer, J.-P., 2014. Predictive and explicative models of fermentative hydrogen production from solid organic waste: Role of butyrate and lactate pathways. *Int. J. Hydrogen Energy* 39, 7476–7485. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2013.08.079>
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., Buffière, P., Carballa, M., de Wilde, V., Ebertseder, F., Fernández, B., Ficara, E., Fotidis, I., Frigon, J.-C., de Laclos, H.F., Ghasimi, D.S.M., Hack, G., Hartel, M., Heerenklage, J., Horvath, I.S., Jenicek, P., Koch, K., Krautwald, J., Lizasoain, J., Liu, J., Mosberger, L., Nistor, M., Oechsner, H., Oliveira, J.V., Paterson, M., Pauss, A., Pommier, S., Porqueddu, I., Raposo, F., Ribeiro, T., Rüsch Pfund, F., Strömberg, S., Torrijos, M., van Eekert, M., van Lier, J., Wedwitschka, H., Wierinck, I., 2016. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Sci. Technol.* 74, 2515–2522. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.336>
- Karrabi, M., Ranjbar, F.M., Shahnavaz, B., Seyedi, S., 2023. A comprehensive review on biogas production from lignocellulosic wastes through anaerobic digestion: An insight into performance improvement strategies. *Fuel* 340, 127239. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.127239>
- Keskin, T., Arslan, K., Nalakth Abubackar, H., Vural, C., Eroglu, D., Karaalp, D., Yanik, J., Ozdemir, G., Azbar, N., 2018. Determining the effect of trace elements on biohydrogen production from fruit and vegetable wastes. *Int. J. Hydrogen Energy* 43, 10666–10677. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2018.01.028>
- Kim, G., Cho, K.-S., 2025. Bacterial synergy and relay for thermophilic hydrogen production through dark fermentation using food waste. *Bioresour. Technol.* 416, 131748. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131748>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Kucek, L.A., Xu, J., Nguyen, M., Angenent, L.T., 2016. Waste Conversion into n-Caprylate and n-Caproate: Resource Recovery from Wine Lees Using Anaerobic Reactor Microbiomes and In-line Extraction. *Front. Microbiol.* 7, 217840. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01892>
- Lacroux, J., Llamas, M., Dauphain, K., Avila, R., Steyer, J.-P., van Lis, R., Trably, E., 2023. Dark fermentation and microalgae cultivation coupled systems: Outlook and challenges. *Sci. Total Environ.* 865, 161136. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161136>

- Lalaurette, E., Thammannagowda, S., Mohagheghi, A., Maness, P.-C., Logan, B.E., 2009. Hydrogen production from cellulose in a two-stage process combining fermentation and electrohydrogenesis. *Int. J. Hydrogen Energy* 34, 6201–6210. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.05.112>
- Lanfranchi, A., Magdalena, J.A., Cavinato, C., Trably, E., 2025. Highly selective acetate production from wine lees through acidogenic fermentation. *J. Environ. Manage.* 373, 123532. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.123532>
- Lee, Z.-K., Li, S.-L., Lin, J.-S., Wang, Y.-H., Kuo, P.-C., Cheng, S.-S., 2008. Effect of pH in fermentation of vegetable kitchen wastes on hydrogen production under a thermophilic condition. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 5234–5241. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.05.006>
- Li, P., Li, W., Sun, M., Xu, X., Zhang, B., Sun, Y., 2018. Evaluation of Biochemical Methane Potential and Kinetics on the Anaerobic Digestion of Vegetable Crop Residues. *Energies* 12, 26. <https://doi.org/10.3390/en12010026>
- Mahmoodi-Eshkaftaki, M., Rafiee, M.R., Mahmoudi, M., 2023. Efficiency of Ultrasonic Pretreatment on Improving Biodegradability of Tomato Wastes and Increasing Biohydrogen Production. *BioEnergy Res.* 16, 2590–2603. <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10601-x>
- Malhotra, M., Aboudi, K., Pisharody, L., Singh, A., Banu, J.R., Bhatia, S.K., Varjani, S., Kumar, Sunil, González-Fernández, C., Kumar, Sumant, Singh, R., Tyagi, V.K., 2022. Biorefinery of anaerobic digestate in a circular bioeconomy: Opportunities, challenges and perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 166, 112642. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.112642>
- Martínez-Mendoza, L.J., Lebrero, R., Muñoz, R., García-Depraect, O., 2022. Influence of key operational parameters on biohydrogen production from fruit and vegetable waste via lactate-driven dark fermentation. *Bioresour. Technol.* 364, 128070. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128070>
- Mohanakrishna, G., Pengadeth, D., 2024. Mixed culture biotechnology and its versatility in dark fermentative hydrogen production. *Bioresour. Technol.* 394, 130286. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130286>
- Montañés, R., Pérez, M., Solera, R., 2014. Anaerobic mesophilic co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation in batch reactors: Effect of pH control. *Chem. Eng. J.* 255, 492–499. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.06.074>
- Monteverde, G., Bianco, F., Papetti, P., Komínková, D., Esposito, G., Race, M., 2024. Moving-bed biofilm reactor (MBBR) alleviates the negative effect of methylisothiazolinone on the nitrification-denitrification process. *J. Water*

- Process Eng. 64, 105640. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.105640>
- Noor, A., Moyle, P.M., Malik, A., Ziora, Z.M., Pant, K.K., 2024. Transformative upcycling of fruit-vegetable waste for nutraceutical and pharmaceutical breakthroughs and circular economy evolution. *Process Saf. Environ. Prot.* 187, 1022–1036. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2024.05.002>
- Oliva, A., Papirio, S., Esposito, G., Lens, P.N.L., 2023. Impact of Chemical and Physical Pretreatment on Methane Potential of Peanut Shells. *Energies* 16, 4698. <https://doi.org/10.3390/en16124698>
- Oliveira, M., Duarte, E., 2016. Integrated approach to winery waste: waste generation and data consolidation. *Front. Environ. Sci. Eng.* 10, 168–176. <https://doi.org/10.1007/s11783-014-0693-6>
- Palomo-Briones, R., Xu, J., Spirito, C.M., Usack, J.G., Trondsen, L.H., Guzman, J.J.L., Angenent, L.T., 2022. Near-neutral pH increased n-caprylate production in a microbiome with product inhibition of methanogenesis. *Chem. Eng. J.* 446, 137170. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137170>
- Panin, S., Setthapun, W., Elizabeth Sinsuw, A.A., Sintuya, H., Chu, C.-Y., 2021. Biohydrogen and biogas production from mashed and powdered vegetable residues by an enriched microflora in dark fermentation. *Int. J. Hydrogen Energy* 46, 14073–14082. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.09.246>
- Pengadeth, D., Basak, N., Bernabò, L., Adessi, A., 2024. Recent advances in dark fermentative hydrogen production from vegetable waste: role of inoculum, consolidated bioprocessing, and machine learning. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 31, 66537–66550. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-35668-7>
- Pinto, J.P.C., Brouwer, R., Zeyniyev, A., Kuipers, O.P., Kok, J., 2022. High-Resolution Chrono-Transcriptome of *Lactococcus lactis* Reveals That It Expresses Proteins with Adapted Size and pI upon Acidification and Nutrient Starvation. *Appl. Environ. Microbiol.* 88. <https://doi.org/10.1128/aem.02476-21>
- Rajendran, K., Mahapatra, D., Venkatraman, A.V., Muthuswamy, S., Pugazhendhi, A., 2020. Advancing anaerobic digestion through two-stage processes: Current developments and future trends. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 123, 109746. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109746>
- Romão, B.B., Silva, F.T.M., Costa, H.C. de B., do Carmo, T.S., Cardoso, S.L., Ferreira, J. de S., Batista, F.R.X., Cardoso, V.L., 2019. Alternative techniques to improve hydrogen production by dark fermentation. *3 Biotech* 9, 18. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1538-y>
- Saravanan, A., Senthil Kumar, P., Khoo, K.S., Show, P.-L., Femina Carolin, C., Fetcia

- Jackulin, C., Jeevanantham, S., Karishma, S., Show, K.-Y., Lee, D.-J., Chang, J.-S., 2021. Biohydrogen from organic wastes as a clean and environment-friendly energy source: Production pathways, feedstock types, and future prospects. *Bioresour. Technol.* 342, 126021. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126021>
- Sganzerla, W.G., Tena, M., Sillero, L., Magrini, F.E., Sophiatti, I.V.M., Gaio, J., Paesi, S., Forster-Carneiro, T., Solera, R., Perez, M., 2023. Application of Anaerobic Co-digestion of Brewery by-Products for Biomethane and Bioenergy Production in a Biorefinery Concept. *BioEnergy Res.* 16, 2560–2573. <https://doi.org/10.1007/s12155-023-10605-7>
- Shanmugam, S., Mathimani, T., Rajendran, K., Sekar, M., Rene, E.R., Chi, N.T.L., Ngo, H.H., Pugazhendhi, A., 2023. Perspective on the strategies and challenges in hydrogen production from food and food processing wastes. *Fuel* 338, 127376. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.127376>
- Shen, J., Yan, H., Zhang, R., Liu, G., Chen, C., 2018. Characterization and methane production of different nut residue wastes in anaerobic digestion. *Renew. Energy* 116, 835–841. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2017.09.018>
- Sillero, L., Solera, R., Perez, M., 2022. Anaerobic co-digestion of sewage sludge, wine vinasse and poultry manure for bio-hydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy* 47, 3667–3678. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.11.032>
- Silva Júnior, F. das C.G. da, Menezes, C.A. de, Cavalcante, W.A., Aragão, O.P., Zaiat, M., Leitão, R.C., 2022. Characterization of Fruits and Vegetables Waste Generated at a Central Horticultural Wholesaler: A Case Study for Energy Production Via Biogas. *Ind. Biotechnol.* 18, 235–239. <https://doi.org/10.1089/ind.2021.0032>
- Soares, J.F., Confortin, T.C., Todero, I., Mayer, F.D., Mazutti, M.A., 2020. Dark fermentative biohydrogen production from lignocellulosic biomass: Technological challenges and future prospects. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 117, 109484. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109484>
- Sreethawong, T., Niyamapa, T., Neramitsuk, H., Rangsunvigit, P., Leethochawalit, M., Chavadej, S., 2010. Hydrogen production from glucose-containing wastewater using an anaerobic sequencing batch reactor: Effects of COD loading rate, nitrogen content, and organic acid composition. *Chem. Eng. J.* 160, 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.03.037>
- Tang, T., Chen, Y., Liu, M., Du, Y., Tan, Y., 2022. Effect of pH on the performance of hydrogen production by dark fermentation coupled denitrification. *Environ. Res.* 208, 112663. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112663>

- Tena, M., Perez, M., Solera, R., 2019. Effects of several inocula on the biochemical hydrogen potential of sludge-vinasse co-digestion. *Fuel* 258, 116180. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116180>
- Thierry, A., Madec, M.-N., Chuat, V., Bage, A.-S., Picard, O., Grondin, C., Rué, O., Mariadassou, M., Marché, L., Valence, F., 2023. Microbial communities of a variety of 75 homemade fermented vegetables. *Front. Microbiol.* 14, 1323424. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1323424>
- Treu, L., Campanaro, S., Kougias, P.G., Sartori, C., Bassani, I., Angelidaki, I., 2018. Hydrogen-Fueled Microbial Pathways in Biogas Upgrading Systems Revealed by Genome-Centric Metagenomics. *Front. Microbiol.* 9, 372562. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01079>
- Van Huynh, V., Nguyen, M.B., Saenchan, S., Truc-Ly, L.-H., Ueyama, T., Shirayanagi, S., Itayama, T., 2024. Investigation of Performance in MBR Operated with Low DO for Low C/N Ratio Wastewater. *Water, Air, Soil Pollut.* 235, 540. <https://doi.org/10.1007/s11270-024-07347-3>
- Vatsala, T., Raj, S., Manimaran, A., 2008. A pilot-scale study of biohydrogen production from distillery effluent using defined bacterial co-culture. *Int. J. Hydrogen Energy* 33, 5404–5415. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.07.015>
- Weide, T., Brüggling, E., Wetter, C., Ierardi, A., Wichern, M., 2019. Use of organic waste for biohydrogen production and volatile fatty acids via dark fermentation and further processing to methane. *Int. J. Hydrogen Energy* 44, 24110–24125. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.07.140>
- Xiao, L., Lichtfouse, E., Senthil Kumar, P., 2021. Advantage of conductive materials on interspecies electron transfer-independent acetoclastic methanogenesis: A critical review. *Fuel* 305, 121577. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121577>
- Zagrodnik, R., Duber, A., Łężyk, M., Oleskiewicz-Popiel, P., 2020. Enrichment Versus Bioaugmentation—Microbiological Production of Caproate from Mixed Carbon Sources by Mixed Bacterial Culture and *Clostridium kluyveri*. *Environ. Sci. Technol.* 54, 5864–5873. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07651>
- Zhou, J., Zhang, R., Liu, F., Yong, X., Wu, X., Zheng, T., Jiang, M., Jia, H., 2016. Biogas production and microbial community shift through neutral pH control during the anaerobic digestion of pig manure. *Bioresour. Technol.* 217, 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.02.077>
- Zieliński, M., Dębowski, M., Kisielewska, M., Nowicka, A., Rokicka, M., Szwarc, K., 2019. Comparison of Ultrasonic and Hydrothermal Cavitation Pretreatments of

- Cattle Manure Mixed with Straw Wheat on Fermentative Biogas Production. *Waste and Biomass Valorization* 10, 747–754. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-9977-y>
- Zupančič, G.D., Lončar, A., Ranilović, J., Šubarić, D., Panjičko, M., 2024. The Influence of Polyphenolic Compounds on Anaerobic Digestion of Pepper Processing Waste during Biogas and Biomethane Production. *Processes* 12, 913. <https://doi.org/10.3390/pr12050913>

CAPITOLO 4. RIMOZIONE DEI COMPOSTI AZOTATI DAL DIGESTATO PROVENIENTE DAL PROCESSO DI DIGESTIONE ANAEROBICA

4.1 Introduzione

La gestione sostenibile dei reflui di origine zootecnica rappresenta una delle principali sfide per il settore agroindustriale, in quanto tali effluenti sono caratterizzati da elevate concentrazioni di composti organici e nutrienti, in particolare azoto e fosforo, che possono causare impatti ambientali significativi se non opportunamente trattati (Scarlat et al., 2018; Wang et al., 2021). La digestione anaerobica costituisce una soluzione consolidata per la valorizzazione energetica di questi reflui, consentendo la produzione di biogas e la stabilizzazione della sostanza organica (Sarker et al., 2018; Bayrakdar et al., 2017). Tuttavia, il digestato residuo richiede ulteriori trattamenti per rispettare i limiti imposti dalle normative vigenti, in particolare per quanto concerne il contenuto di azoto totale nelle zone vulnerabili ai nitrati (ZVN) (European Union, 2020; Reuland et al., 2021).

L'elevata concentrazione di azoto ammoniacale nel digestato, se non opportunamente ridotta, limita infatti le possibilità di utilizzo agronomico del materiale prodotto. La Direttiva Nitrati prevede un limite di 170 kg N/ha·anno per lo spandimento dei reflui in ZVN, imponendo pertanto un abbattimento dell'azoto totale in uscita dagli impianti di trattamento (European Union, 2020). Una riduzione del 40–50% rispetto alle concentrazioni riscontrate nelle vasche di denitrificazione consentirebbe di dimezzare la superficie di terreno necessaria per lo spandimento e facilitare lo smaltimento della frazione liquida del digestato (Reuland et al., 2021; Rietra et al., 2024). Tale obiettivo è particolarmente rilevante per gli impianti a biogas alimentati da reflui zootecnici, nei quali l'efficienza della conversione dei composti azotati in azoto gassoso risulta spesso limitata dall'inibizione ammoniacale e da

squilibri stechiometrici C/N (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020; Ajayi-Banji et al., 2020).

Negli ultimi anni, diverse tecnologie di trattamento biologico e chimico sono state proposte per il miglioramento della qualità del digestato, tra cui i processi di nitrificazione–denitrificazione in reattori a batch sequenziale (SBR), lo stripping dell’ammoniaca e la precipitazione del fosforo come struvite (Jiang et al., 2019; Yellezuome et al., 2022; Sigurnjak et al., 2019). In tale contesto, il presente lavoro sperimentale si propone di individuare le condizioni operative ottimali per la rimozione dell’azoto ammoniacale dal digestato derivante dalla digestione anaerobica dei reflui zootecnici, valutando l’efficacia combinata dei processi biologici e chimici (Campos et al., 2013; Palakodeti et al., 2022a; Palakodeti et al., 2022b). L’obiettivo è quello di fornire un modello riproducibile e trasferibile alla scala reale per la gestione efficiente di impianti esistenti, in coerenza con gli indirizzi strategici europei su Green Deal e REPowerEU (European Commission, 2019; European Commission, 2022; Gas for Climate, 2022; COPA-COGECA et al., 2023).

Il caso di studio analizzato fa riferimento a un impianto di produzione di biogas della potenza di 999 kW, alimentato da reflui zootecnici e dotato di un sistema integrato per la riduzione dell’azoto, articolato in tre macro-sezioni operative: digestione anaerobica, trattamento biologico in sistema SBR e separazione solido–liquido. L’attenzione è stata focalizzata sulla seconda fase, ossia il trattamento biologico del digestato in reattori SBR destinati ai processi di nitrificazione e denitrificazione. A tale scopo, è stato realizzato un reattore in scala di laboratorio in grado di riprodurre le condizioni operative reali, consentendo di monitorare l’efficienza di rimozione dei composti azotati e di valutare la riproducibilità dei parametri di processo (Jiang et al., 2019; Poirier et al., 2016). Tale approccio sperimentale consente di validare le strategie di gestione del digestato e di definire possibili ottimizzazioni applicabili su scala industriale. Inoltre, sono stati condotti test di ammonia stripping finalizzati alla rimozione dell’azoto ammoniacale residuo dal digestato, con l’obiettivo di valutare l’efficacia del processo di desorbimento in condizioni controllate (Jiang et al., 2014; Yao et al., 2017; Yellezuome et al., 2022).

4.2 Materiali e metodi

Il presente paragrafo descrive il caso di studio e l’assetto impiantistico considerato, illustrando la configurazione del sistema in scala reale e la sua riproduzione in scala di

laboratorio, nonché i protocolli sperimentali e analitici utilizzati per valutare le prestazioni dei processi di rimozione dell'azoto e del fosforo dal digestato.

4.2.1 Descrizione dell'impianto

L'impianto oggetto di studio è un impianto di produzione di biogas della potenza di 999 kW alimentato da reflui zootecnici ed è, inoltre, dotato di un sistema di abbattimento dell'azoto per consentire lo spandimento sui terreni del digestato, rispettando i dettami della Direttiva Nitrati e i criteri RENURE per la sostituzione parziale dei fertilizzanti sintetici (European Union, 2020; Reuland et al., 2021).

Per tale motivo l'impianto è articolato in tre macroaree che corrispondono a diverse tipologie di lavorazione dei reflui di origine zootecnica che vengono conferiti: una prima area destinata allo sversamento, all'omogeneizzazione e alla digestione anaerobica del liquame in digestori; una seconda area prevede, invece, la lavorazione del digestato in un sistema SBR finalizzato alla riduzione dell'azoto presente, mentre una terza area è destinata allo stoccaggio della frazione solida e di quella liquida in uscita dal separatore solido liquido dopo il trattamento.

Focalizzando l'attenzione sulla seconda fase della lavorazione, il digestato, ottenuto dalla digestione anaerobica del refluo zootecnico in ingresso all'impianto, viene trattato per via biologica mediante un processo a fanghi attivi ad aerazione estesa in ambiente SBR.

Il trattamento avviene miscelando ed aerando il digestato, dopo separazione della frazione solida, in un reattore appositamente predisposto per ottimizzare sia la fase di ossidazione per un tempo sufficiente ad effettuare la nitrificazione, sia la fase della denitrificazione biologica che avviene mantenendo il miscelatore in funzione e fermando l'aerazione.

Nel reattore la chiarificazione tramite sedimentazione non è perseguibile poiché la concentrazione dei solidi sospesi del digestato e dei liquami, pur se in fase liquida, è talmente elevata che è impossibile ottenere una chiarificazione per sedimentazione.

Il trattamento del digestato non è quindi definibile come un processo di depurazione, bensì un'operazione mirata alla sola riduzione dei composti azotati — in particolare N-NH_4^+ tramite nitrificazione seguita da denitrificazione — senza chiarificazione finale (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020). Il trattamento ammette esclusivamente che il digestato, assieme ad una frazione di liquame bovino, entra ed esca dal trattamento sostanzialmente alla stessa concentrazione di solidi avendo come scopo la sola riduzione dei composti azotati, in particolare le forme minerali ammoniacali per nitrificazione e successiva denitrificazione biologica.

Per quanto riguarda le caratteristiche progettuali, il reattore SBR è costituito da due vasche concentriche in c.c.a. prefabbricato, una denominata SBR1 (max level=5m, min. level=4 m, $D_i = 21.09$ m, $H = 7$ m, $V_d = 1080$ m³) in cui avviene il processo di denitrificazione e l'altra denominata SBR 2 ($D_i = 9.15$ m, $H = 8$ m, $V_n = 400$ m³) in cui avviene la nitrificazione dell'azoto ammoniacale e organico idrolizzabile.

La vasca SBR2 raccoglie il digestato in uscita dalla digestione anaerobica e, attraverso delle condotte poste sul fondo della vasca, lo trasferisce all'interno della vasca di nitrificazione sul cui fondo sono disposti i piattelli per l'aerazione, necessari sia al processo sia per mantenere in agitazione il digestato.

Dalla vasca di nitrificazione il digestato viene trasferito nella denitrificazione attraverso uno scarico di troppo-pieno e nella SBR2 viene mantenuto in agitazione attraverso un mixer che ha un funzionamento ON-OFF liberamente programmabile : normalmente è sempre in funzione durante lo scarico del reattore; a intervalli regolari di circa 4-6 ore deve attivarsi in parallelo per almeno 15 minuti, mentre il programma di ispessimento della biomassa prevede lo spegnimento dell'agitatore di denitrificazione per 1 ora prima dell'attivazione dello scarico.

Il programma di alleggerimento della biomassa prevede almeno 6 interventi di scarico al giorno con presa dal fondo vasca SBR1 sempre dopo almeno dopo 30 minuti di arresto funzionamento del mixer.

In questo modo, considerando che ad ogni intervento di scarico precedentemente menzionato corrisponde un carico di 25m³ di digestato, si ha un carico giornaliero di 150 m³ direttamente nella vasca di denitrificazione.

Considerando, inoltre, che il volume totale del reattore SBR, ovvero la somma del volume della vasca SBR1 e SBR2, è di 1480 m³, il tempo di ritenzione idraulica HRT con cui lavora l'impianto è di circa 10 giorni (Jiang et al., 2019; Poirier et al., 2016; Song et al., 2022):

$$HRT = \frac{V_{SBR1} + V_{SBR2}}{150 \text{ m}^3/\text{giorno}} = \frac{1480 \text{ m}^3}{150 \text{ m}^3/\text{giorno}} = 10 \text{ giorni} \quad (\text{Eq. 4.1})$$

Entrambe le vasche sono dotate di interruttori di livello elettromeccanici a galleggiante, la vasca di nitrificazione è dotata di ossimetro e di centraline per la misura di ammonio e nitrati.

4.2.2 Riproduzione dell'SBR in scala di laboratorio

La configurazione in scala di laboratorio riproduce i rapporti geometrici e funzionali delle due fasi (nitrificazione/denitrificazione), con pretrattamento di separazione solido-liquido e aerazione diffusa nella fase di nitrificazione per mantenere DO nei range ottimali (tipicamente 2–8 mg/L per alte concentrazioni di ammonio) e anossia in denitrificazione (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020). L'impiego di inoculo attivo da impianto civile consente di accelerare l'insediamento dei nitrificanti, limitando l'inibizione da ammoniaca libera (FA) alle prime fasi (Poirier et al., 2016; Jiang et al., 2019).

Tab. 4.1 – Caratteristiche del sequencing batch reactor (SBR).

SBR 1 - Denitrificazione	
D_i (m):	21,09
R (m)	10,545

H (m)	3
A (m²)	349,3358
Vd (m³)	1080
SBR2 -Nitrificazione	
Di (m):	9,15
R (m)	4,575
H (m)	6,20
A (m²)	65,7555
Vn (m³)	407

Di : diametro interno della vasca; R: raggio della vasca; H: altezza della vasca; A: area della vasca; V: volume della vasca.

Tenuto conto dei precedenti rapporti in scala reale, è stato dimensionato il reattore in scala di laboratorio, adoperando per la fase di nitrificazione una tubazione in PVC ($D_e = 160\text{mm}$, $D_i = 152\text{ mm}$, $H_n = 500\text{mm}$, $V_n=3.78\text{ l}$) con uno scarico di troppo pieno posto ad un'altezza di $H= 300\text{ mm}$ che corrisponde al massimo livello raggiungibile nella fase di nitrificazione. Allo sfioratore laterale è stato collegato un tubo di $D_e=20\text{ mm}$ che garantisce il trasporto del digestato dalla fase di nitrificazione alla fase di denitrificazione.

Per la fase di denitrificazione è stato utilizzato un recipiente con $V_{tot} = 17\text{ l}$, riempiendone un volume $V_d= 8.70\text{ l}$ con un livello massimo $H_d= 250\text{mm}$. L'agitazione è garantita attraverso una tubazione collegata ad una pompa con pescante in un lato del recipiente e scarico in un altro punto. Il volume totale del reattore è di circa 12l.

Sono stati inoltre verificati i rapporti tra i volumi V, i diametri D e le altezze H e confrontati con quelli in scala reale:

Tabella 4.2. Reattore su scala di laboratorio.

Rapporto tra i volumi V	
	0,38
Vn/Vd	
Rapporto tra i diametri D	
Dn/Dd	0,43
Rapporto tra le altezze H	
Hn/Hd	1,55

4.2.3 Fase di avvio dell'SBR in scala di laboratorio

Per prevenire inibizioni iniziali si è adottata una diluizione progressiva ($1:10 \rightarrow 1:5 \rightarrow 1:1$), aumentando gradualmente il carico di N-NH_4^+ e la frequenza di ricarica, strategia nota per mitigare l'accumulo di nitriti quando la biomassa nitrificante non è ancora stabile (Capson-Tojo et al., 2020; Song et al., 2022). Per tale motivo, rispettando la modalità di alimentazione dell'SBR reale, il digestato diluito (2 L di digestato e 10 L di acqua) è stato immesso dalla fase di denitrificazione, mentre nella fase di nitrificazione è stato immesso il fango proveniente dalla fase biologica dell'impianto di trattamento dei reflui civili di Cassino, al fine di facilitare l'avvio del processo biologico. Tale fango ha la funzione di inoculo, ovvero facilitare il processo di nitrificazione.

In merito al fango biologico e al digestato utilizzati si riportano di seguito le rispettive caratterizzazioni:

- Caratterizzazione digestato in ingresso da trattare
pH = 8
 $\text{PO}_4^{3-} = 420,669 \text{ mg/l}$
 $\text{SO}_4^{2-} = 44,972 \text{ mg/l}$
 $\text{Br}^- = 25,146 \text{ mg/l}$
 $\text{Cl}^- = 1397,266 \text{ mg/l}$
 $\text{F}^- = 3,598 \text{ mg/l}$
 $\text{N-NH}_4^+ = 967 \text{ mg/l}$
 $\text{TN} = 967,5 \text{ mg/l}$
- Caratterizzazione inoculo in ingresso nella fase di nitrificazione
pH = 6,928
 $\text{NO}_2^- = 8,054 \text{ mg/l}$
 $\text{NO}_3^- = 25,163 \text{ mg/l}$
 $\text{SO}_4^{2-} = 11,845 \text{ mg/l}$
 $\text{TN} = 8,133 \text{ mg/l}$
 $\text{ALK} = 775 \text{ mg/l as CaCO}_3$

La gestione del DO (ossigenazione “spinta” in nitrificazione) e delle condizioni anossiche in denitrificazione è risultata determinante per garantire la completa ossidazione di nitrito a nitrato e la successiva riduzione a N_2 (Jiang et al., 2019; Poirier et al., 2016).

Per quanto riguarda il funzionamento del reattore si è considerato un funzionamento in semi-batch per il primo mese, ovvero il funzionamento dei ricircoli è in continuo, tuttavia l'alimentazione del reattore è stata prevista con cadenza giornaliera sempre dalla vasca di denitrificazione, considerando un volume pari a 300 ml che, per il primo mese di sperimentazioni, è stato diluito 1:10 e successivamente si è provveduto a diminuire la diluizione; le operazioni di alimentazione giornaliere sono state effettuate successivamente allo svuotamento del reattore, sempre dalla vasca di denitrificazione,

di un volume pari a 300ml. Questa fase con alimentazione 1:10 di 300ml è stata svolta considerando un HRT di circa 40 giorni dall'avvio del reattore.

La seconda fase di funzionamento del reattore è sempre stata prevista con funzionamento in semi-batch, tuttavia i ricircoli denitrificazione-nitrificazione e quello dalla nitrificazione alla denitrificazione non hanno avuto un funzionamento in continuo.

Si è lasciata una pompa (Watson- Marlow 505U) con RPM 80 con funzione di agitatore interno alla fase di denitrificazione, mentre per i ricircoli e l'alimentazione è stata utilizzata una seconda pompa con due canali di lavoro: il primo dedicato all'alimentazione del reattore (il digestato diluito 1:5 viene immesso nella fase di denitrificazione); il secondo consente il ricircolo dalla fase di denitrificazione alla nitrificazione.

Il funzionamento è assicurato da un timer al quale è connessa la pompa che, impostata con un RPM 70, ricircola 300 ml per ciascun canale di lavoro in circa 8 minuti.

Manualmente si è provveduto allo svuotamento giornaliero di 300 ml dalla fase di denitrificazione; l'HRT di questa condizione di lavoro è di circa 40 giorni, tuttavia è stata condotta per soli 10 giorni, alimentando al reattore 2l di digestato diluito 1:5, considerando i malfunzionamenti che si sono avuti durante questa fase di sperimentazione.

Successivamente è stata introdotta una ulteriore modalità di lavoro del reattore, al fine di passare da una condizione iniziale che consentisse l'avvio del processo biologico ad una condizione di lavoro il più possibile simile a quella del reattore reale.

In questa fase, lasciando invariata la disposizione delle pompe peristaltiche descritta in precedenza, sono state effettuate due ricariche giornaliere di 300ml con diluizione 1:5, in modo tale da raddoppiare il carico di azoto ammoniacale in ingresso.

L'HRT con questa nuova configurazione di lavoro del reattore è di 20 giorni; considerando, tuttavia, i 2 l precedentemente alimentati si è scesi ad un HRT di 17 giorni circa con una diluizione finale del reattore pari a 1:5.

L'obiettivo finale della sperimentazione è quello di immettere nel reattore il digestato filtrato ma non diluito, poiché il processo biologico risulta già avviato pertanto non si rischierebbe più un sovraccarico di sostanza ammoniacale.

Si è deciso quindi in una fase iniziale di passare da una diluizione 1:5 ad una configurazione lavorativa 1:1 tramite una diluizione intermedia pari a 1:2.5 effettuando delle ricariche giornaliere della sola frazione di digestato corrispondente alla diluizione applicata.

In particolare, dopo circa una settimana dall'avvio dell'alimentazione 1:5, per passare ad un'alimentazione priva di diluizione, evitando di sovraccaricare il processo, si è preferito alimentare non più 300ml 1:5 per due ricariche giornaliere, ma solo 120ml di digestato.

Allo stesso modo si è proceduto nel momento in cui si è deciso di abbassare il rapporto di diluizione, ovvero si è preferito prendere in considerazione la sola frazione di digestato.

In questo modo, pur aumentando l'HRT calcolato tenendo in considerazione il volume, dal punto di vista delle concentrazioni non si alterano gli step di lavoro.

In particolare per abbassare l'HRT si prevede un incremento di ricariche giornaliere del solo digestato fino ad un massimo di n.6 previste per l'impianto in scala reale.

Questa condizione lavorativa, tuttavia, è stata poi operativamente non seguita in quanto l'alimentazione della sola frazione di digestato non diluita non era possibile considerando la strumentazione utilizzata, pertanto si è ritornati ad un'alimentazione del digestato diluito, avendo però delle portate maggiori da gestire.

È stato previsto comunque un aumento graduale delle ricariche per aumentare la concentrazione di digestato nel reattore, cambiando quindi l'HRT lavorativo.

Tale incremento di ricariche di alimentazione è stato valutato considerando la degradazione dell'azoto ammoniacale da parte dei microrganismi del processo: l'incremento di ricariche in alimentazione è stato effettuato quando sono state registrate basse concentrazioni di TN nella vasca di denitrificazione.

In questo modo è stata riprodotta l'alimentazione del reattore reale, evitando elevati tempi di residenza del fango e assicurando un ricambio periodico del digestato da trattare.

Il campionamento è stato svolto con cadenza giornaliera con prelievo di n.1 campione (50 ml) per ogni fase del processo e simultaneamente è stato monitorato il pH delle due fasi mediante un pH-metro.

I campioni prelevati sono stati successivamente preparati per poter effettuare le analisi riguardanti le concentrazioni di NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Br^- , Cl^- , F^- tramite IC e le concentrazioni di N-NH_4^+ e TN.

4.2.4 Prove di rimozione dell'azoto ammoniacale

Al fine di valutare l'efficienza del processo biologico all'interno del reattore, sono state condotte altre prove separate, riguardanti rispettivamente la conversione dell'azoto ammoniacale in nitrati nel processo di nitrificazione e la conversione dell'azoto ammoniacale in azoto gassoso tramite stripping.

4.2.5 Valutazione dell'efficienza di nitrificazione

Sono stati prelevati 300 ml di digestato diluito 1:10 dalla fase di denitrificazione del reattore.

Successivamente è stato modificato il pH del digestato prelevato grazie ad una soluzione 3mL di HCl, portandolo da pH=8.492 ad un valore pari a pH= 7.2.

Il campione così modificato è stato inserito in una bottiglia chiusa ed è stato fornito ossigeno, simulando così la fase di nitrificazione.

È stato monitorato l'andamento della concentrazione dei nitrati per una durata di 7 giorni.

4.2.6 Prove di rimozione tramite strippaggio

Per la valutazione della rimozione dell'azoto ammoniacale tramite strippaggio, sono stati preparati n.8 campioni da 35ml ciascuno di digestato filtrato.

Il pH dei campioni è stato modificato adoperando una soluzione 1M di HCl e una soluzione 1M di NaOH.

Partendo dal pH=8.151 del primo campione, ci si è portati, con uno step di pH pari a 0.3, fino a pH=10.251.

Dei campioni preparati è stata monitorata la concentrazione di azoto ammoniacale, ricercando il valore di pH per il quale la concentrazione $N-NH_4^+$ risultasse più bassa.

4.2.7 Prove di rimozione del fosforo tramite precipitazione

Per quanto riguarda il fosforo è stata considerata la possibilità di rimozione chimica, tramite precipitazione come struvite $(NH_4)MgPO_4 \cdot 6(H_2O)$

Poiché per la precipitazione del fosforo come struvite è necessaria la presenza di Ca, N, P e Mg, essendo già presente nel digestato una concentrazione di 122.9 mg/l di Mg, si è preferito andare a studiare prima per quale valore di pH potesse avvenire la precipitazione, senza aggiungere reagenti a base di Mg che potessero aumentarne la concentrazione.

I campioni di digestato filtrato sono stati portati a valori prestabiliti di pH, a partire dal pH del digestato fino ad un pH=11.5 con step pari a 0.5, per un totale di n.9 campioni, considerando che il range di pH per la precipitazione del fosforo sottoforma di struvite è compreso tra pH=7 e pH=12.

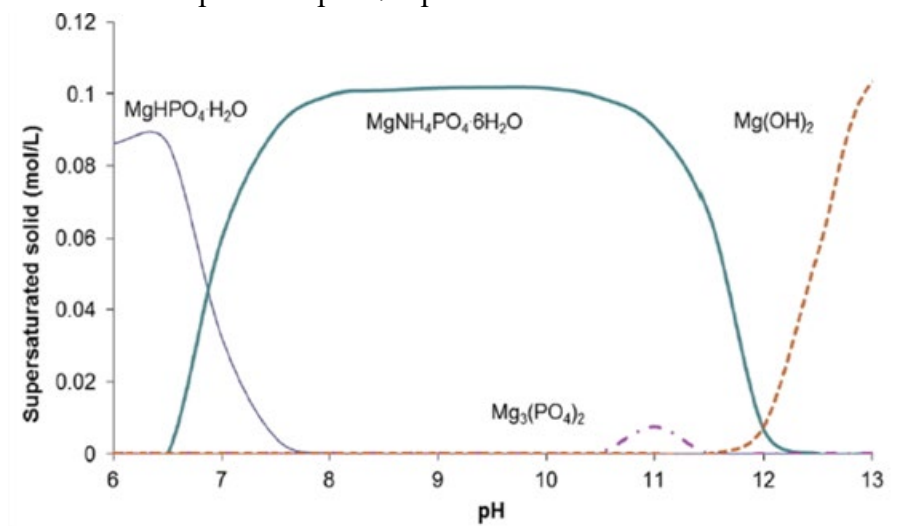


Figura 4.1 - Range di pH per la precipitazione di P come struvite. Kim et al. 2017

I campioni così modificati sono stati agitati per 1 minuto e poi sono stati lasciati a sedimentare per favorire la deposizione sul fondo del campione della struvite.

Con cadenza giornaliera è stato prelevato un campione da ogni prova di pH al fine di conoscere la concentrazione di fosforo presente.

Il campione prelevato è stato diluito con diluizione 1:50, è stato successivamente filtrato su filtro Whatman in polietilene (0,45 μm) all'interno di cuvette prima dell'analisi all'IC (883 Basic IC plus, Metrohm).

Dall'analisi all'IC è stata ricavata la concentrazione di P come anioni PO_4^{3-} , ricavando poi il fosforo presente.

Si è ricercato il valore di pH per cui è la percentuale di rimozione di P con precipitazione di struvite è più alta.

4.2.8 Metodi analitici

I parametri di processo monitorati (pH, DO, NO_2^- , NO_3^- , N-NH_4^+ , TN, PO_4^{3-}) sono quelli comunemente utilizzati per valutare l'efficienza dei processi di nitrificazione–denitrificazione e gli equilibri acido–base che influenzano la speciazione ammoniacale/ammonio (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020). La determinazione di fosfati per IC e la discussione sui bilanci di P sono in linea con gli approcci adottati per valutare la possibilità di recupero come fertilizzanti minerali (Sigurnjak et al., 2017; Sigurnjak et al., 2019; Saju et al., 2022).

Il pH rappresenta uno dei parametri fondamentali che influenzano i processi biologici di nitrificazione e denitrificazione, i quali risultano ottimali in un intervallo compreso tra 7.0 e 8.0.

Le misurazioni sono state effettuate mediante un pH-metro calibrato con soluzioni standard a pH 4.00, 7.00 e 9.00. Lo strumento, dotato di elettrodo in vetro con sonda al platino, determina il pH sulla base della differenza di potenziale tra la soluzione interna e il campione analizzato. L'elettrodo è stato mantenuto in soluzione 3 M KCl per preservarne l'efficienza.

La concentrazione di ossigeno disciolto è stata misurata tramite una sonda ottica basata sul principio della luminescenza. Il luminoforo contenuto nella Smart CapTM viene eccitato da un LED blu, emettendo luce rossa la cui intensità e durata diminuiscono in presenza di ossigeno. Il segnale rilevato dal fotodiodo è convertito in concentrazione di ossigeno disciolto, espressa in ppm (mg/L) o in percentuale di saturazione. Il sistema è dotato di LED di riferimento per la compensazione automatica del segnale, consentendo misure stabili nel tempo senza frequente ricalibrazione.

L'alcalinità, determinata come capacità tampone del sistema, è stata misurata secondo la procedura APHA (2005). La titolazione è stata condotta su 20 mL di campione con HCl 0.1 M fino al raggiungimento di pH 4.5, valore corrispondente alla

completa neutralizzazione degli ioni bicarbonato. Il risultato è stato espresso come mg/L di CaCO_3 .

La concentrazione di azoto totale è stata determinata mediante kit analitici WTWTM (Total Nitrogen Test Kits) secondo il metodo di Koroleff. I composti organici e inorganici di azoto sono stati ossidati a nitrato tramite digestione in termoreattore a 120 °C per 60 min. Dopo opportune diluizioni (fino a 1:250), le analisi sono state eseguite con spettrofotometro PhotoLab S6 (WTW) e i risultati espressi in mg/L N-TN.

Il trattamento termico dei campioni per la determinazione del TN è stato condotto mediante termoreattore WTW 2200 (Xylem) a 120 °C per 1 h. Tale fase consente la digestione chimica dei campioni e la completa conversione dei composti azotati.

L'azoto ammoniacale è stato determinato tramite metodo spettrofotometrico all'indofenolo. L'ammoniaca reagisce con salicilato di sodio e cloro in ambiente alcalino, con nitroprussiato di sodio come catalizzatore, producendo un composto verde-blu la cui assorbanza è misurata a 690 nm.

La curva di calibrazione (0–2 mg/L N-NH_4^+) ha mostrato una regressione lineare ($y = 0.7011x - 0.07$, $R^2 > 0.99$). Le concentrazioni finali sono state calcolate correggendo per il fattore di diluizione del campione.

Le analisi di TN e N-NH_4^+ sono state eseguite mediante spettrofotometro PhotoLab S6 (WTW), operante nel campo UV–Vis. Il sistema utilizza una lampada al tungsteno e un reticolo a diffrazione (1200 linee/mm) per la separazione spettrale della luce. Le misure sono state effettuate in modalità di assorbanza o concentrazione, calibrando lo strumento con standard di riferimento.

Le concentrazioni di nitriti (NO_2^-), nitrati (NO_3^-) e fosfati (PO_4^{3-}) sono state determinate mediante cromatografia ionica (IC) utilizzando un 883 Basic IC plus (Metrohm). I campioni, diluiti (1:50) e filtrati su membrane in PE (0.45 μm), sono stati analizzati con colonna a scambio anionico e rivelazione conduttimetrica post-soppressione.

L'identificazione dei composti è avvenuta confrontando i tempi di ritenzione e le aree dei picchi con le soluzioni standard di riferimento; le concentrazioni sono state calcolate tramite curve di taratura costruite con soluzioni standard multi-anioniche.

4.3 Risultati e discussione

In questa sezione sono presentati e discussi i risultati ottenuti sia in scala reale sia in scala di laboratorio, con particolare riferimento alle prestazioni del processo

biologico in reattori SBR e all'efficacia delle prove di rimozione dell'azoto e del fosforo mediante strippaggio e precipitazione.

4.3.1 Processo biologico in ambiente SBR in scala reale

Il monitoraggio su 20 giorni ha evidenziato, nella fase di nitrificazione, un accumulo di nitriti in concomitanza con elevate concentrazioni di ammoniaca libera, condizione nota per inibire i Nitrobacter (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020). Nei primi cinque giorni gli andamenti $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ sono coerenti con la cinetica attesa (assenza di nitrito e crescita dei nitrati), mentre successivamente si osserva un'inversione con scomparsa di NO_3^- e comparsa di NO_2^- , compatibile con stress da FA o insufficiente DO locale (Jiang et al., 2019). In denitrificazione, l'accumulo transitorio di nitriti è plausibile quando il ricircolo tra le fasi è elevato rispetto alla capacità di riduzione dei denitrificanti (Poirier et al., 2016). L'inoculo e il controllo più stretto di ricircoli/DO in scala di laboratorio hanno permesso un avvio più affidabile e il contenimento degli intermedi (Song et al., 2022). Per quanto riguarda il pH si è rilevato che il valore presente nella vasca di nitrificazione oscilla tra pH=8.57 del primo giorno di monitoraggio a pH=9 rilevato a metà del periodo di monitoraggio. Il pH del digestato in vasca di denitrificazione, invece, si è mantenuto piuttosto costante e pari a circa 7.8.

Passando alle analisi condotte con Cromatografia Ionica sui campioni di digestato prelevati si evince che nella fase di nitrificazione, a causa delle elevate concentrazioni di azoto ammoniacale in ingresso al reattore, si ha un accumulo di nitriti che inibiscono la cinetica di trasformazione dei nitriti in nitrati da parte dei Nitrobacter.

Durante i primi cinque giorni analizzati le concentrazioni di nitriti e nitrati nella nitrificazione sembrano rispettare i normali andamenti che sono riportati anche in letteratura, ovvero una totale assenza di nitriti e un andamento costante delle concentrazioni di nitrati, quindi una normale cinetica di degradazione dell'azoto ammoniacale.

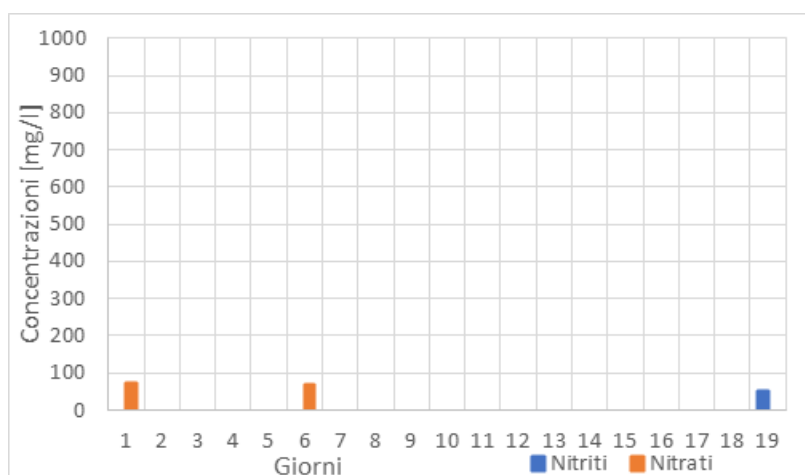


Figura 4.2 - Andamento nitriti e nitrati nella vasca di nitrificazione dell'SBR in scala reale.

Nei successivi giorni del monitoraggio, tuttavia, si è riscontrata una totale assenza di nitrati e, nell'ultimo giorno, si è registrata una concentrazione di nitriti maggiore rispetto a quella dei nitrati, perlopiù assenti.

Si è quindi registrato un trend totalmente opposto rispetto a quello atteso, in cui le concentrazioni dei nitrati in nitrificazione tendono ad aumentare, mentre quelle dei nitriti tendono a diminuire, poiché trasformati in nitrati.

La vasca di denitrificazione, come quella di nitrificazione, nei primi giorni della fase conoscitiva, presentava un trend concorde con quello descritto in letteratura.

La riduzione delle concentrazioni di nitrati non è, tuttavia, sostanziale, pertanto la condizione si è ritenuta piuttosto stazionaria nei confronti delle cinetiche di degradazione dei nitrati da parte dei *Pseudomonas*, si è passati dai 73,235 mg/l del primo giorno ai 69.996 mg/l del sesto giorno.

Questa cinetica costante da parte dei batteri denitrificanti ha subito poi una radicale velocizzazione che ha portato alla totale assenza di nitrati nella fase considerata.

Simultaneamente si è però avuto un accumulo di nitriti nella vasca di denitrificazione probabilmente dovuto a un ricircolo tra la fase di nitrificazione e di denitrificazione prima che potesse avvenire la degradazione da parte dei *Nitrobacter*.

Si è riscontrata, quindi, una evidente difficoltà nella partenza del processo biologico, poiché vi è un carico organico troppo elevato e i microrganismi nitrificanti non si riescono a formare. In particolare ci sono solo microrganismi eterotrofi che consumano sostanza organica rispetto a quelli che occorrono per degradare l'ammoniaca trasformandola in nitrato.

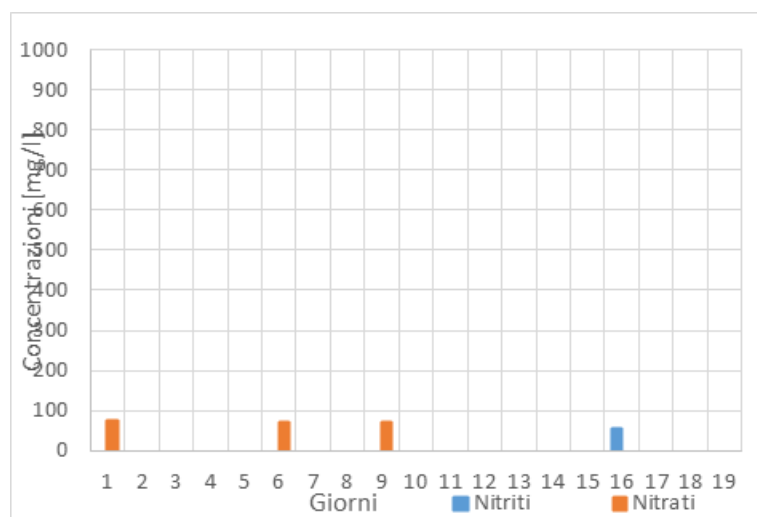


Figura 4.3 - Andamento nitriti e nitrati nella vasca di denitrificazione dell'SBR in scala reale.

Per tale ragione, nella sperimentazione in scala di laboratorio, è risultato necessario un inoculo iniziale, utilizzando il fango di depurazione in scala di laboratorio

La concentrazione di azoto totale nella vasca di denitrificazione, quindi il valore in uscita dal processo, è di 3000 mg/l.

4.3.2 Efficienza del processo biologico

La prova di “nitrificazione simulata” su digestato diluito 1:10 mostra la completa conversione dell' N-NH_4^+ ($\approx 99\%$) a N-NO_3^- con andamento decrescente di NO_2^- , coerente con cinetiche più lente dei *Nitrosomonas* rispetto ai *Nitrobacter* quando il carico è moderato (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020). L'aumento del pH osservato, nonostante la produzione di H^+ in nitrificazione, è spiegabile con l'ingresso di digestato basico e con l'elevata alcalinità tipica dei reflui zootecnici (Jiang et al., 2019).

Di seguito si riporta l'andamento delle concentrazioni di nitriti e dei nitrati osservate durante la prova sperimentale.

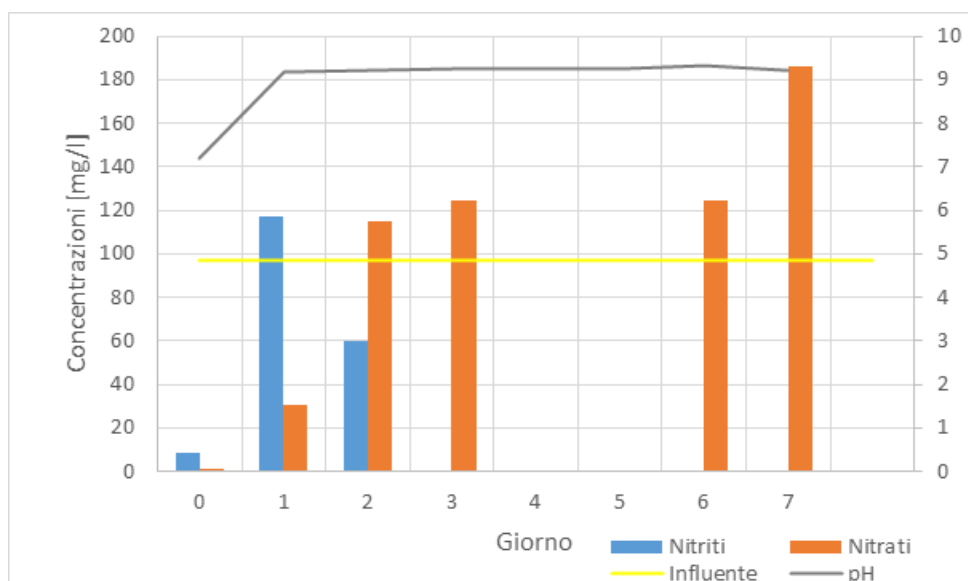


Figura 4.4 -Concentrazioni di nitriti e nitrati durante la prova di valutazione dell'efficienza del processo biologico in funzione del pH.

Come si evince in figura 37, i nitrati che si sono formati nel processo di simulazione della nitrificazione hanno un trend crescente, fino a concentrazioni di circa 180 mg/l (dato verosimile in quanto il digestato è diluito) alla fine della prova sperimentale; allo stesso tempo i nitriti hanno fatto registrare un trend decrescente.

In figura 38 si riportano le concentrazioni dell'azoto contenuto nei nitriti e nitrati, dell'azoto ammoniacale, confrontandole con le concentrazioni di azoto totale.

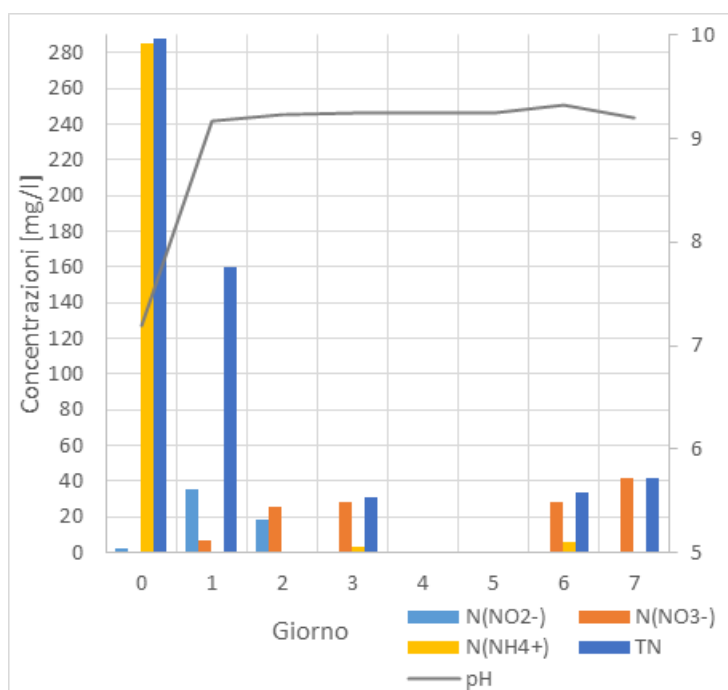


Figura 4.5 - Concentrazioni di $N\text{-NO}_2^-$, $N\text{-NO}_3^-$, $N\text{-NH}_4^+$ e TN

Tabella 4.3 - Concentrazioni di $N\text{-NO}_2^-$, $N\text{-NO}_3^-$, $N\text{-NH}_4^+$ e TN

Giorno	pH	N-NH4 [mg/l]	N-NO ₂ ⁻ [mg/l]	N-NO ₃ ⁻ [mg/l]	TN [mg/l]
1	7,20	285,77	2,56	0,21	38,28
2	9,17		35,60	6,97	160
3	9,23		18,27	25,97	
4	9,25	2,95	0	28,11	147,04
5	9,33	6,00	0	28,11	34,12
6	9,20	0,08	0	42,03	42,03

Il processo biologico della fase di nitrificazione risulta quindi capace di degradare l'azoto ammoniacale del digestato in ingresso in nitriti e poi in nitrati, con cinetiche di degradazione dei Nitrosomonas più lente rispetto a quelle dei Nitrobacter, in modo tale da non favorire l'accumulo di nitriti.

L'efficienza del processo biologico è quindi pari al 99%, considerando che:

- $N\text{-NH}_4^+ = 28,79$ mg/l in ingresso (concentrazione proveniente dalla vasca di denitrificazione all'avvio della prova con diluizione 1:10 del digestato)
- $N\text{-NH}_4^+ = 0,08$ mg/l in uscita (concentrazione rilevata l'ultimo giorno della prova)

Rispetto all'azoto totale (TN), quindi, i dati più significativi che sono stati ottenuti rispetto alle misure sperimentali sono quelli relativi ai giorni 2 e 4, poiché sono concentrazioni più verosimili rispetto a quelle degli altri giorni, in quanto, a causa dell'aumento della concentrazione dei nitrati e quindi dell'azoto contenuto in essi, ci si aspetta che l'azoto totale in nitrificazione abbia un trend crescente, piuttosto che decrescente. Si registra, infatti, nella tabella precedente, che la concentrazione di azoto ammoniacale diminuisce perché viene degradato in nitrati che, infatti, incrementano la loro concentrazione.

Si è pertanto certi che tutto l'azoto ammoniacale presente nella fase di avvio della prova è stato convertito in azoto nitrico durante il processo di nitrificazione, escludendo quindi la possibilità che, date le elevate concentrazioni di N-NH_4^+ in ingresso, la rimozione dei composti azotati potesse inibire il processo biologico tanto da valutare l'ipotesi di rimozione chimica tramite strippaggio.

Dai dati riguardanti il monitoraggio del pH si evince come, sebbene la nitrificazione produca ioni H^+ che portano ad un'acidificazione del pH, l'introduzione di digestato basico comporta un andamento crescente del pH, piuttosto che decrescente, lavorando quindi in campo basico.

Da questa prova pilota, condotta su digestato diluito 1:10 al quale è stato aggiunto un inoculo derivante da un altro processo biologico in scala di laboratorio, al fine di aiutare la formazione di batteri nitrificanti, si è quindi verificata la possibilità di avviare con esito positivo il processo biologico.

4.3.3 Processo biologico in ambiente SBR in scala di laboratorio

L'asestamento ha richiesto ~30 giorni; la variazione di HRT e diluizione ha influenzato l'accumulo di nitriti e la stabilità del processo, come atteso per substrati ad alto N e C/N variabile (Capson-Tojo et al., 2020; Ajayi-Banji et al., 2020). A regime (1:1) si è mantenuta la riduzione di TN $\geq 50\%$ in uscita, con DO adeguato in nitrificazione e condizioni anossiche in denitrificazione (Jiang et al., 2019; Song et al., 2022). In termini agronomici e di policy, tale riduzione supporta la conformità in ZVN e la sostituzione parziale di fertilizzanti sintetici tramite prodotti a base ammoniacale/digestato trattato secondo criteri RENURE (European Union, 2020; Reuland et al., 2021; Saju et al., 2022; Rietra et al., 2024). L'obiettivo non è quello di azzerare la concentrazione di azoto totale in uscita dall'impianto ma ridurne il contenuto almeno di un 40- 50 %.

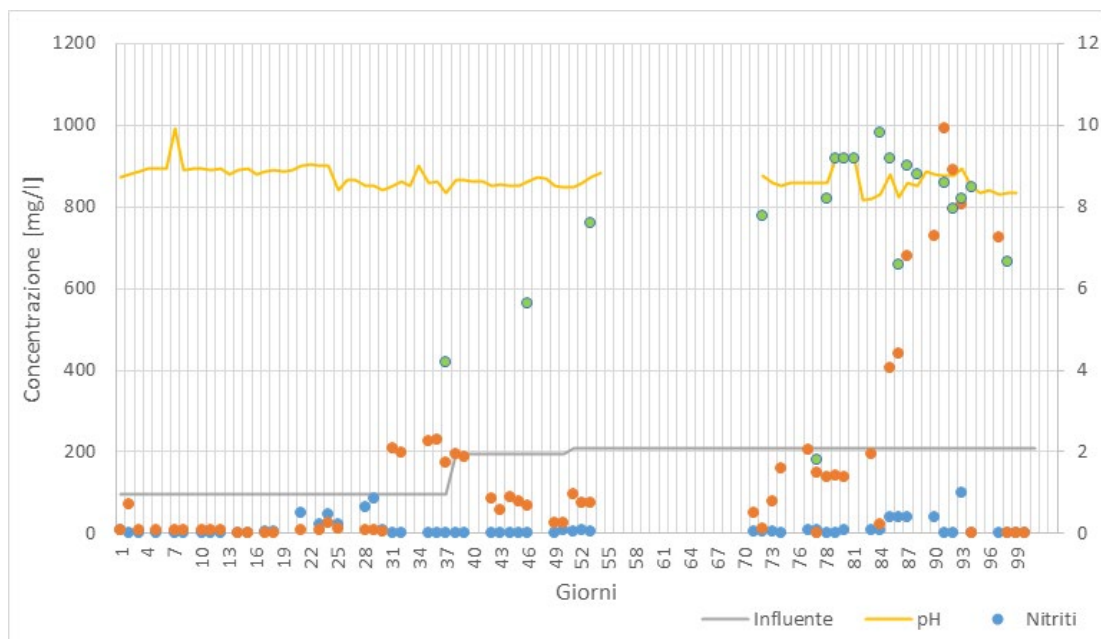


Figura 4.6- Andamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati in nitrificazione durante l'intera fase sperimentale in funzione del pH e della concentrazione di ossigeno disciolto.

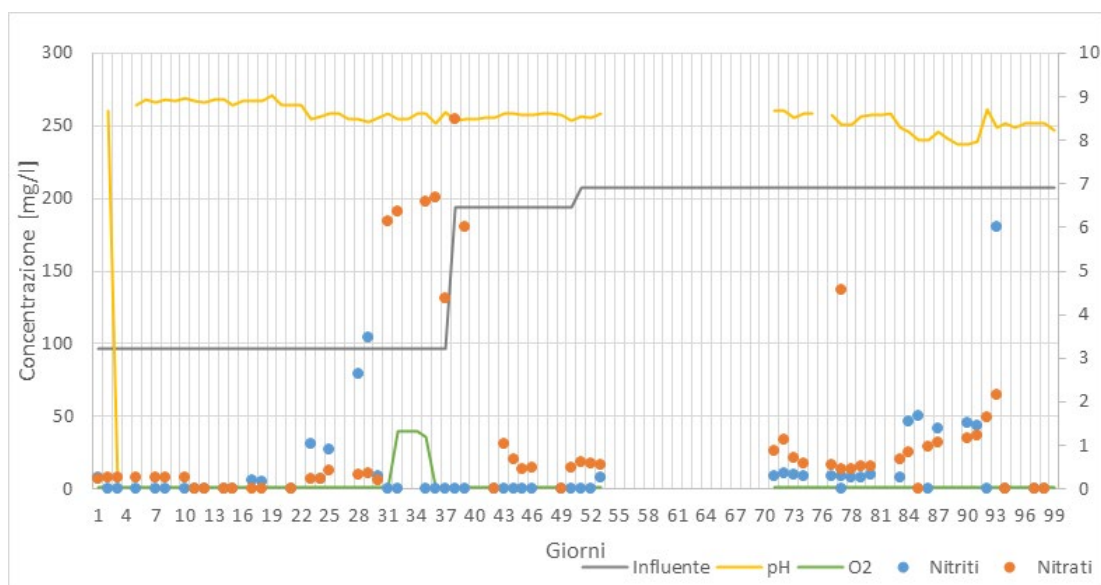


Figura 4.7 - Andamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati in denitrificazione durante l'intera fase sperimentale in funzionew del pH e della concentrazione di ossigeno disciolto.

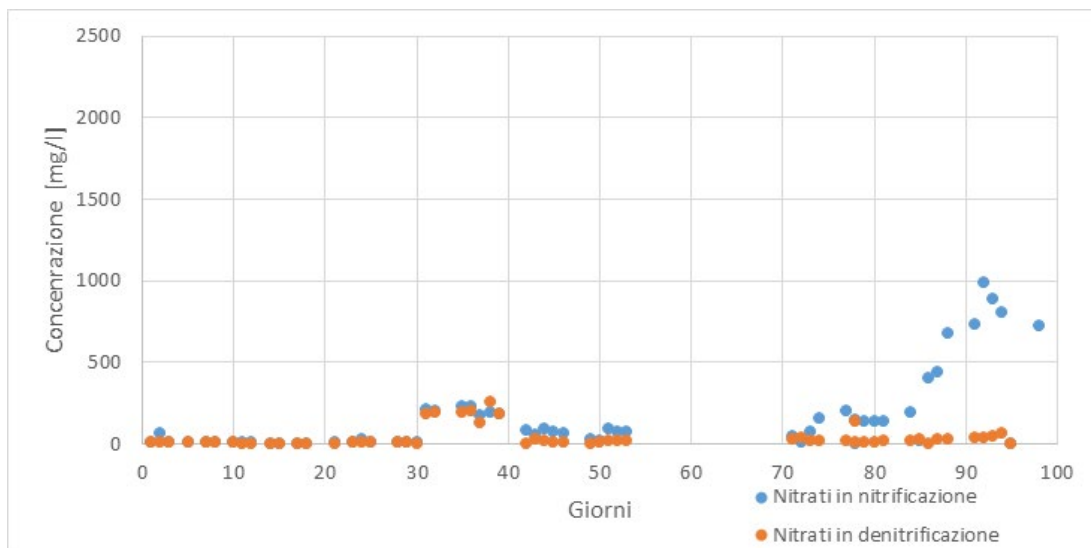


Figura 4.8- Efficienza del processo biologico di trattamento di liquame zootecnico sviluppato in scala di laboratorio.

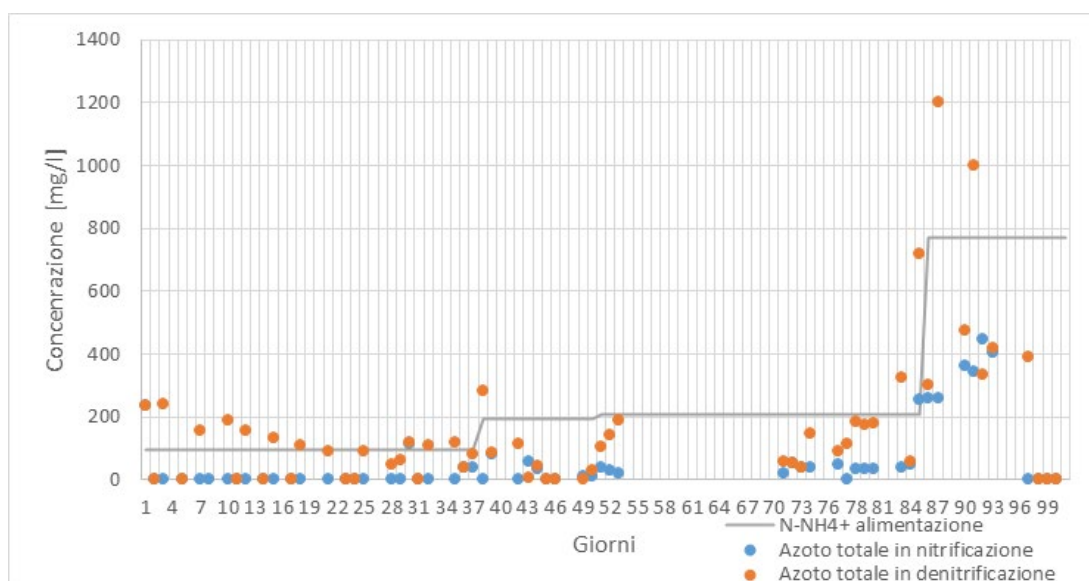


Figura 4.9 - Trend dell'azoto totale in nitrificazione e denitrificazione: efficienza di rimozione.

Tenendo conto dell'intera fase sperimentale, il processo biologico di nitrificazione-denitrificazione ha impiegato circa 30 giorni per poter ritenersi definitivamente avviato.

Il primo mese, infatti, è da ritenersi un periodo di assestamento, durante il quale si è riuscito a contenere sostanzialmente l'accumulo di nitriti nella nitrificazione, in modo tale da non inibire il processo, riuscendo, tuttavia, anche a ridurre il contenuto di azoto totale rispetto a quello del digestato di alimentazione.

Il problema dell'accumulo dei nitriti si è poi verificato nel momento in cui è stato variato l'HRT e quindi la diluizione usata per il digestato in ingresso (passando da 1:10 a 1:5): facendo lavorare separatamente le due fasi del processo biologico, si è inibito l'accumulo di nitriti.

Successivamente si è registrato nuovamente un accumulo di nitriti in nitrificazione e un'inibizione della trasformazione in nitrati quando si è adoperata l'alimentazione a regime nell'ultima fase della sperimentazione, durante la quale il digestato non è stato più diluito ma si è lavorato con concentrazioni 1:1.

La concentrazione di azoto ammoniacale riportata in figura 39 è rappresentativa del carico di azoto ammoniacale del digestato diluito, così come è stato alimentato al reattore: per i primi 30 giorni la concentrazione di N-NH_4^+ è pari a 96,7 mg/l (1:10), al cambio di diluizione la concentrazione di azoto ammoniacale è raddoppiata, perché la diluizione si è dimezzata (1:5). Si è poi avuta una fase stazionaria per quanto riguarda il carico di azoto ammoniacale in ingresso relativamente alla diluizione utilizzata, l'incremento di concentrazione di NH_4^+ è stato effettuato non cambiando la diluizione ma aumentando il numero di ricariche giornaliere. Nell'ultima parte della sperimentazione, quando il digestato in ingresso al reattore non è stato più diluito, la concentrazione di azoto ammoniacale in ingresso al reattore è aumentata a 771 mg/l.

Sostanzialmente durante tutto il processo sperimentale, come si evince dal grafico raffigurante l'efficienza della nitrificazione- denitrificazione, il trend dei nitrati in nitrificazione è risultato sempre maggiore rispetto a quello della denitrificazione, in accordo con gli andamenti in letteratura.

La trasformazione dell'azoto ammoniacale in nitrati durante la nitrificazione ha riportato trend sempre maggiori quanto più aumentava il volume di digestato alimentato al reattore e quindi la concentrazione di azoto ammoniacale in ingresso: dal monitoraggio della concentrazione di ossigeno disciolto si è altresì riscontrato che l'aumento del volume di digestato da trattare fornito giornalmente al reattore non ha influito sulle concentrazioni ottimali di ossigeno per la nitrificazione (processo aerobico) e per la denitrificazione (processo anossico). Pertanto l'efficienza del processo biologico è da ritenersi elevata, considerando che mentre le concentrazioni di nitrati in nitrificazione hanno trend crescente, quelli in denitrificazione hanno trend decrescente e pari a circa 0 mg/l.

Dal punto di vista dell'efficienza di rimozione dell'azoto totale, non considerando la fase di assestamento del processo, l'azoto totale in nitrificazione ha sempre concentrazioni inferiori a quelle della denitrificazione e quindi in uscita dall'impianto.

Il trend crescente dell'azoto totale in denitrificazione è comunque da attribuirsi al fatto che proprio nella vasca di denitrificazione avviene l'immissione del digestato da trattare e conseguentemente avviene l'immissione di elevate concentrazioni di azoto ammoniacale che, in pratica, è come se venisse "diluuito" con le basse concentrazioni di azoto totale proprie del processo di denitrificazione.

Dal monitoraggio del pH non si è riuscita a trovare una correlazione diretta, rispetto a quanto ci si aspettava, tra il processo di nitrificazione e la variazione di pH: all'aumentare della concentrazione di nitrati il rilascio di ioni H^+ tende normalmente ad acidificare il pH, rendendolo più basso di quello della nitrificazione, tuttavia la presenza del digestato ha contribuito ad aumentare il pH della nitrificazione, avendo sempre una certa omogeneità di valori tra la nitrificazione e la denitrificazione.

Il pH in nitrificazione si è mantenuto all'interno dell'intervallo 8.2-9.2 mentre nella denitrificazione oscilla tra 7.97 e 8.90.

Le concentrazioni di azoto totale in nitrificazione si mantengono, per tale motivo, più basse di quelle della denitrificazione, in quanto il digestato è già lavorato in quest'ultima; tuttavia, a causa dell'aumento della concentrazione dei nitrati, il trend dell'azoto totale assume anche in nitrificazione un aumento. La concentrazioni di azoto totale in uscita alla fine della sperimentazione è circa pari a 400 mg/l, l'obiettivo della sperimentazione è stato rispettato, ovvero si è riuscita a raggiungere una riduzione dell'azoto totale maggiore del 45-50% rispetto alla concentrazione ad inizio processo (pari a 200 mg/l considerando la diluizione 1:10 del reattore e quindi pari a 2000 mg/l non considerando la diluizione).

4.3.3.1 Variazione HRT e andamento nitriti, nitrati, azoto ammoniacale e azoto totale

HRT $\approx$ 40 giorni, 1:10 ($\approx$ 100 mg/L NH_4^+ in influente) ha avuto un trend iniziale stabile di NO_3^- con $NO_2^- \approx 0$, seguito da accumulo di nitrito a causa del carico/ricircolo e DO non ottimale; riduzione dell'ossigeno in nitrificazione e disaccoppiamento temporaneo dei ricircoli hanno ristabilito la piena ossidazione a nitrato (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020). La diluizione 1:5 ($\approx$ 200 mg/L NH_4^+), alimentazione 10 giorni ha evidenziato un lieve rallentamento della nitrificazione ($NO_3^- \sim 1/3$ del picco iniziale) ma senza accumulo di NO_2^- , coerente con shock di alimentazione e day-off (Song et al., 2022). Con un HRT $\approx$ 20 giorni, 1:5, 2 ricariche/giorno ($\approx$ 400 mg/L NH_4^+) si è avuto incremento di NO_3^- in nitrificazione e consumi in denitrificazione con NO_2^- trascurabile; risultati compatibili con ricircolo e DO adeguato (Poirier et al., 2016; Jiang et al., 2019). HRT $\approx$ 10 giorni, 1:5, 4 ricariche/giorno ($\approx$ 800 mg/L NH_4^+) ha mostrato criticità temporanee per DO (pietra porosa) e alimentazione; ripristinato

DO ~9 mg/L, il processo ha ripreso l'ossidazione completa; in denitrificazione, NO_3^- decrescenti e TN <400 mg/L (Song et al., 2022). L'insieme conferma che controllo di DO, ricircoli e "ramp-up" del carico sono le leve chiave per evitare accumulo di NO_2^- (Jiang et al., 2019; Capson-Tojo et al., 2020).

4.3.3.2 Carico di ammonio 100 mg/l (diluizione del digestato 1:10)

La prima fase di lavoro del reattore ha previsto un'alimentazione di digestato con diluizione 1:10, lavorando quindi con un HRT di 40 giorni circa.

Tabella 4.4- Concentrazioni composti azotati in nitrificazione HRT =40 giorni

Tempo (d)	NO_2^- [mg/l]	NO_3^- [mg/l]	Tempo (d)	NO_2^- [mg/l]	NO_3^- [mg/l]
1	7,90	6,92	19		
2	0	6,98	20		
3	0	7,33	21	48,76	7,51
4			22		
5	0	7,64	23	21,87	7,01
6			24	45,91	24,42
7	0	6,78	25	23,90	11,78
8	0	6,91	26		
9			27		
10	0	6,82	28	64,42	8,85
11	0	6,79	29	84,12	9,31
12	0	6,85	30	96,55	60,90
13			31	0	209,35
14	0	0	32	0	198,76
15	0	0	33		
16			34		
17	5,53	0	35	0	226,13
18	5,83	0	36	0	182,76
			37	0	174,94
Tempo (d)	NO_2^- [mg/l]	NO_3^- [mg/l]	Temp o (d)	NO_2^- [mg/l]	NO_3^- [mg/l]
1	7,91	6,92	20	0	0
2	0	8,23	21	0	0
3	0	7,54	22	0	0

4	0	0	23	30,72	7,12
5	0	7,43	24	7,29	6,80
6	0	0	25	26,99	12,55
7	0	7,65	26	0	0
8	0	7,71	27	0	0
9	0	0	28	79,61	10,16
10	0	8,05	29	104,17	10,83
11	0	0	30	87,47	55,38
12	0	0	31	0	184,64
13	0	0	32	0	191,40
14	0	0	33	0	0
15	0	0	34	0	0
16	0	0	35	0	197,84
17	5,87	0	36	0	160,16
18	4,89	0	37	0	130,92
19	0	0			

Tabella 1- Concentrazioni composti azotati in denitrificazione per HRT=40 giorni.

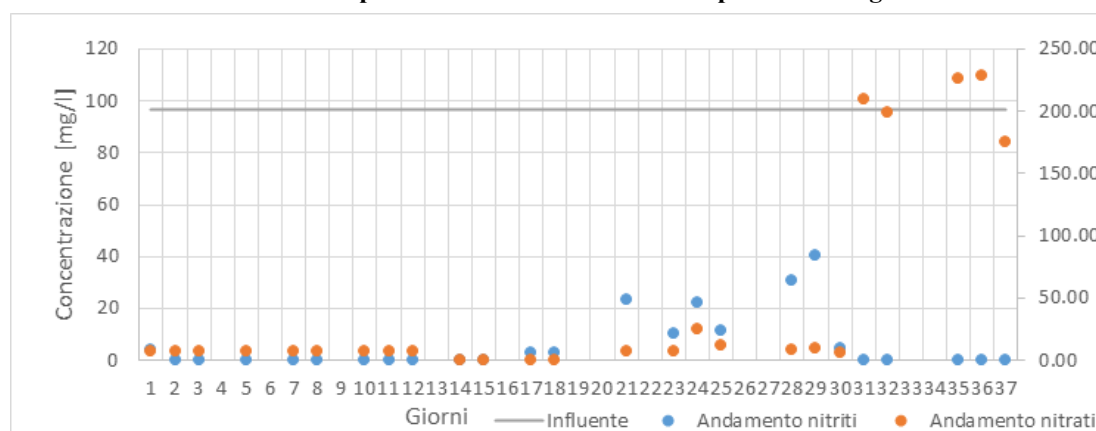


Figura 4.10 - Andamento delle concentrazioni dei nitriti e dei nitrati in nitrificazione per HRT=40 giorni con alimentazione 300m/giorno con diluizione 1:10

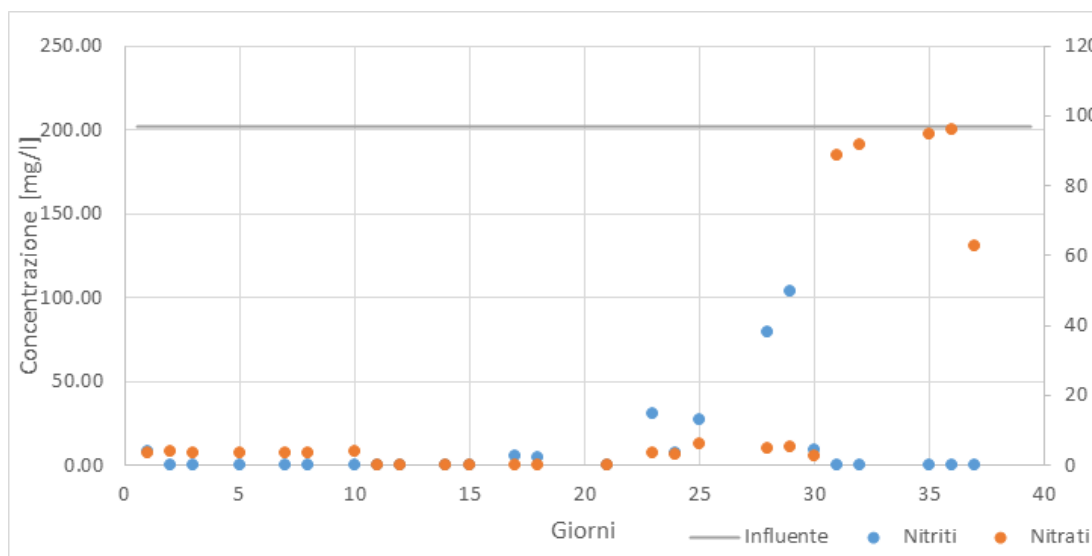


Figura 4.11 -Andamento delle concentrazioni dei nitriti e dei nitrati in denitrificazione per HRT=40 giorni con alimentazione 300m/giorno con diluizione 1:10

In questa fase di avvio del reattore è stata necessaria la diluizione del digestato per evitare di sovraccaricare il processo biologico e avere la stessa condizione lavorativa dell'SBR in scala reale. Considerando la diluizione del digestato e considerando che tutto l'azoto immesso, ovvero quello totale, è azoto ammoniacale, la concentrazione di ammonio in ingresso è di 100 mg/l.

Nei primi giorni di avvio del processo la concentrazione dei nitrati è stata perlopiù costante nella nitrificazione, con concentrazioni all'interno del reattore che si attestano intorno ai 10 mg/l circa.

I nitriti sono totalmente assenti nel processo di nitrificazione fino al 15° giorno, probabilmente dovuto alle elevate cinetiche di trasformazione di nitriti in nitrati, come da letteratura.

È necessario considerare, durante tutta la fase sperimentale che, per quanto riguarda le concentrazioni dei nitriti i valori forniti dall'IC potrebbero essere state soggette ad un errore sperimentale dovuta alla sensibilità dello strumento stesso.

Durante i primi 20 giorni di sperimentazione le concentrazioni di nitriti e nitrati in nitrificazione hanno avuto un trend abbastanza simile e costante, probabilmente legato ad una fase di assestamento iniziale del processo.

Per i successivi 10 giorni il processo biologico di nitrificazione ha fatto riscontrare un trend anomalo, ovvero si sono registrate concentrazioni crescenti di nitriti mentre le concentrazioni dei nitrati erano pressoché costanti, pur se in leggero aumento.

La causa del rallentamento della cinetica di degradazione dei nitriti in nitrati da parte dei Nitrobacter è da ricercare nell'accumulo di nitriti causato da un'eccessiva concentrazione di azoto ammoniacale in alimentazione alla nitrificazione.

Guardando, invece, il processo di denitrificazione, escludendo le concentrazioni dei nitriti, i nitrati hanno fatto registrare delle concentrazioni inferiori ai 10 mg/l e comunque prossime allo zero durante i primi 30 giorni della sperimentazione.

Il problema principale della denitrificazione in questa fase di avvio del reattore è stato legato alle crescenti concentrazioni di nitriti sia in nitrificazione che in denitrificazione, rallentando quindi le cinetiche di degradazione.

Dal monitoraggio dell'ossigeno disciolto in denitrificazione è stata misurata una concentrazione pari a 1.21 mg/l, molto al di sopra della concentrazione limite di 0.05 mg/l per garantire le condizioni di anossia, pertanto si è considerata questa come causa della scarsa efficienza del processo.

Per ovviare a questo problema di accumulo dei nitriti è stato deciso in primo luogo di ridurre temporaneamente la velocità di ricircolo tra la nitrificazione e la denitrificazione e in secondo luogo è stata abbassata l'insufflazione di O_2 in nitrificazione ed è stato staccato il ricircolo denitrificazione- nitrificazione in modo tale da evitare l'accumulo di nitrati in denitrificazione, dandole modo di consumare i nitrati che si sono accumulati, facendo lavorare due fasi di lavorare separatamente.

I campioni negli ultimi tre giorni di questa fase lavorativa sono stati prelevati in queste condizioni del reattore.

Gli accorgimenti adottati hanno stabilizzato il processo e, infatti, la concentrazione di ossigeno disciolto in denitrificazione si è ridotta a 0.05 mg/l, in nitrificazione è circa 4 mg/l.

Dal punto di vista delle concentrazioni dei composti azotati il processo di nitrificazione si può ritenere definitivamente avviato intorno al 31° giorno della sperimentazione in cui i nitrati sono passati da circa 10 mg/l a 50 mg/l e i nitriti invece sono totalmente assenti.

Nella denitrificazione intorno al 30° giorno la concentrazione dei nitriti ha subito una radicale riduzione, passando da circa 100 mg/l a 0 mg/l, mentre l'andamento dei nitrati, dopo essersi notevolmente incrementato a causa del ricircolo tra le due fasi del processo che ha portato in denitrificazione i nitrati che si stavano formando in nitrificazione, ha iniziato anch'esso a ridursi, con concentrazioni al di sotto dei 150 mg/l.

Guardando le concentrazioni di $N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$ e TN si nota che all'inizio della sperimentazione tutto l'azoto immesso all'interno del reattore è ammoniacale,

con totale assenza di nitriti e nitrati poi, con l'avviarsi del processo, considerando le problematiche operative soprariportate, l'azoto totale assume un trend decrescente, così come quello ammoniacale, mentre le concentrazioni di N-NO_2^- restano costanti mentre quelle di N-NO_3^- tendono sensibilmente ad aumentare.

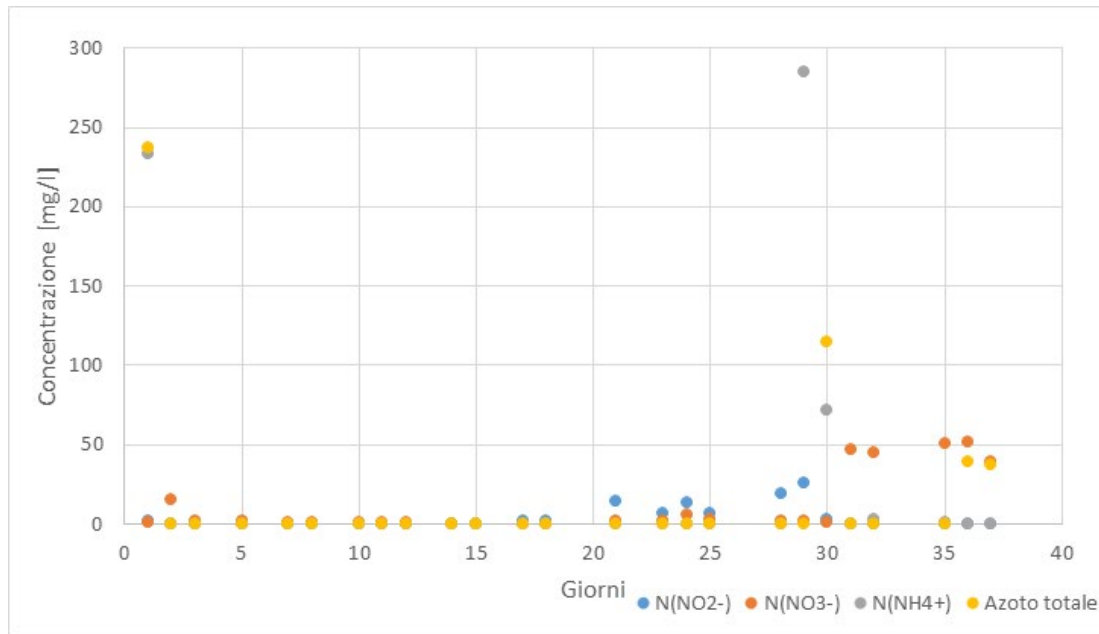


Figura 4.12- Andamento delle concentrazioni di azoto ammoniacale, azoto nitroso, azoto nitrico e azoto totale in nitrificazione per $\text{HRT}=40$ giorni con alimentazione di 300ml/giorno 1:10.

Anche in denitrificazione l'azoto totale ha un trend decrescente così come quello ammoniacale, il trend dell'azoto contenuto nei nitriti riporta le concentrazioni costanti di questi ultimi nel processo di denitrificazione, mentre per quanto riguarda l'azoto contenuto all'interno dei nitrati si è evidenziato un andamento crescente con concentrazioni più alte rispetto a quelle che i medesimi hanno nella vasca di nitrificazione.

Probabilmente questa concentrazione maggiore all'interno del processo di denitrificazione è da attribuirsi alla presenza di nitrati in denitrificazione grazie al ricircolo interno tra nitrificazione e denitrificazione a seguito dell'avvio del processo di nitrificazione precedentemente descritto.

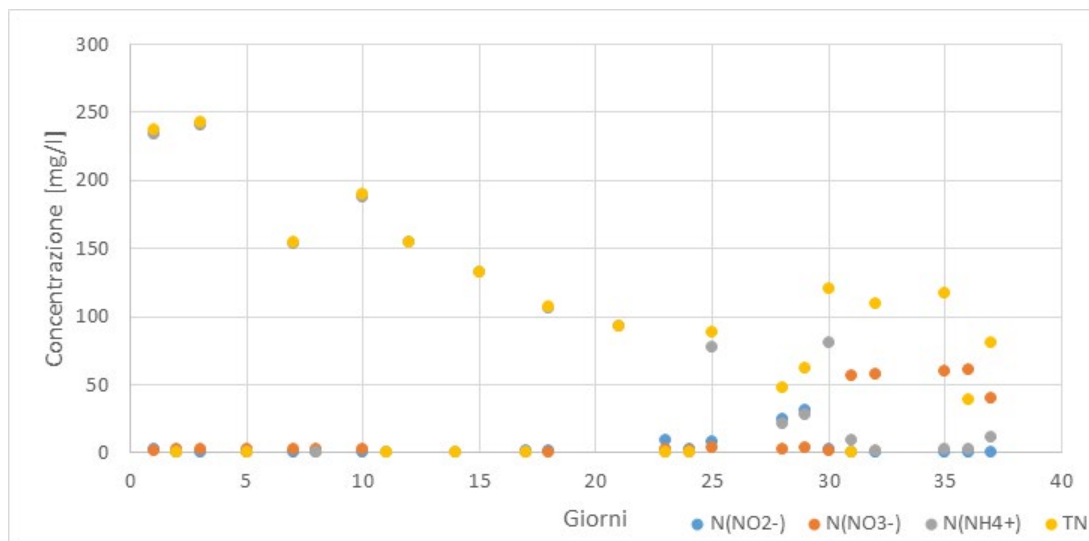


Figura 4.13 - Andamento delle concentrazioni di azoto ammoniacale, azoto nitroso, azoto nitrico e azoto totale in denitrificazione per HRT= 40 giorni con alimentazione di 300 ml/giorno 1:10.

Si può infine affermare che la concentrazione di azoto totale contenuta nel processo di nitrificazione si è ridotta di circa 200 mg/l, con un annullamento totale delle concentrazioni di azoto ammoniacale. In denitrificazione, invece, la concentrazione di azoto ammoniacale, presente perché l'alimentazione al reattore avviene dalla vasca di denitrificazione, si è ridotta di 200 mg/l, mentre l'azoto totale da circa 250 mg/l si è ridotto a circa 50 mg/l., ovvero dell' 80% alla fine della fase di avvio del processo.

4.3.3.3 Carico di ammonio 200 mg/l (diluizione del digestato 1:5)

Successivamente è stata modificata la diluizione, passando da 1:10 a 1:5 con alimentazione sempre di 300 ml/giorno, raddoppiando il carico di ammonio. L'HRT anche in questo caso è di 40 giorni, tuttavia questa modalità di lavoro è stata effettuata solo per n. 10 giorni.

Tabella 4.5- Concentrazioni di nitriti e nitrati in nitrificazione per HRT=40 giorni con alimentazione di 300 ml/giorno (1:5) eseguita per soli 10 giorni.

Tempo [d]	NO ₂ - [mg/l]	NO ₃ - [mg/l]
1	0,00	371,45
2	0,00	359,86
3		
4		
5	0,00	150,91
6	0,00	112,10
7	0,00	166,52
8	0,00	146,17
9	0,00	120,31
10		

Si è notato che con il raddoppio del digestato all'interno del reattore avvenuto con il cambio di diluizione, il processo di nitrificazione nei successivi 10 giorni ha subito un rallentamento, ovvero i nitriti non sono presenti, tuttavia, dopo i primi due giorni, la concentrazione di nitrati è quasi 1/3 rispetto alla concentrazione di 350 mg/l iniziale ed è rimasta costante durante questa fase di lavoro. Le cause di questo rallentamento del processo biologico sono da ricercarsi nella mancata alimentazione del reattore il 4° giorno.

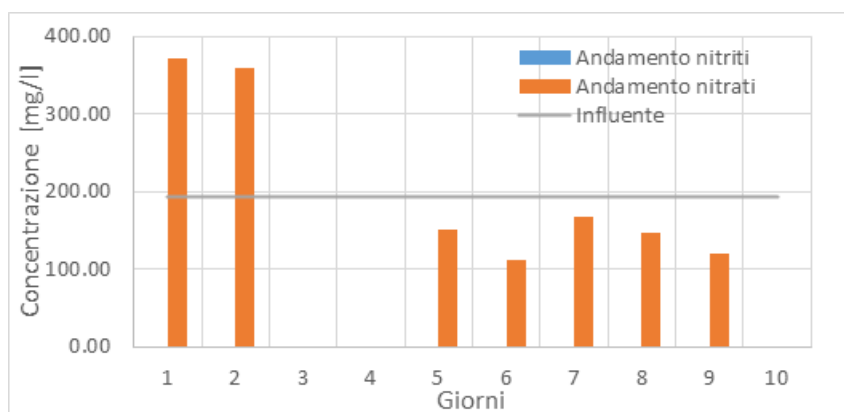


Figura 4.13- Andamento delle concentrazioni dei nitriti e nitrati in nitrificazione per HRT=10giorni con alimentazione 300ml/giorno con diluizione 1:5.

Tabella 4.6- Concentrazioni di nitriti e nitrati in denitrificazione per $HRT = 40$ giorni con alimentazione di 300 ml/giorno (1:5) eseguita per soli 10 giorni.

Tempo [d]	NO ₂ - [mg/l]	NO ₃ - [mg/l]
1	0,00	254,12
2	0,00	180,74
3		
4		
5	0,00	0,00
6	0,00	31,09
7	0,00	20,01
8	0,00	14,04
9	0,00	14,36
10		

In denitrificazione il processo ha rispettato il trend che ci si aspettava, con nitriti totalmente assenti e una progressiva riduzione della concentrazione dei nitrati a 14mg/l.

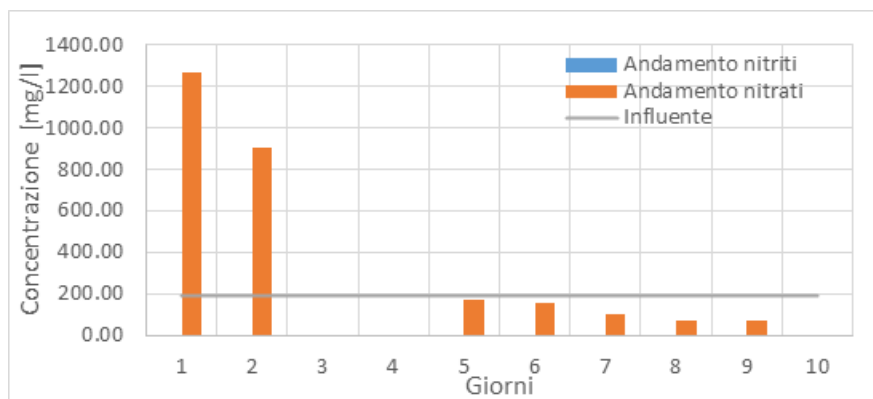


Figura 4.14-Andamento delle concentrazioni dei nitriti e nitrati in denitrificazione per $HRT=10$ giorni con alimentazione 300ml/giorno con diluizione 1:5.

L'andamento delle concentrazioni dell'azoto ammoniacale, azoto nitrico, azoto nitroso e quindi l'azoto totale in nitrificazione, a causa di mancanza di prove sull'azoto totale e quello ammoniacale non dà sinifcative riflessioni sull'avanzamento del processo, se non che la riduzione della concentrazione dell'azoto ammoniacale che viene immesso in nitrificazione avviene con una rapida trasformazione dei nitriti in nitrati, senza che il processo si inibisca, pur rallentandosi.

Guardando, invece, il trend dell'azoto in denitrificazione si riscontra una progressiva riduzione della concentrazione dell'azoto totale, attribuito al buon funzionamento del processo che consente la degradazione dei nitrati.

Poiché si è visto che il processo in queste condizioni è in grado di degradare l'azoto totale in azoto gassoso, si è deciso di incrementare la concentrazione di digestato, aumentando le alimentazioni di n.2 ricariche giornaliere da 300 ml piuttosto che la ricarica da 300 ml prevista fino ad ora, così da raddoppiare l'azoto ammoniacale in ingresso, non cambiando la diluizione.

La percentuale di rimozione dell'azoto in 10 giorni lavorando con questo HRT è molto elevata, controllando tale rimozione sempre sulla vasca di denitrificazione; considerando, invece, la percentuale di rimozione dell'azoto totale dall'inizio della sperimentazione si può stimare una riduzione dell'azoto totale, rispetto a quello immesso, pari quasi al 97%, tuttavia questa è solo una fase intermedia, quindi questa diminuzione dell'azoto totale non è da ritenersi particolarmente significativa.

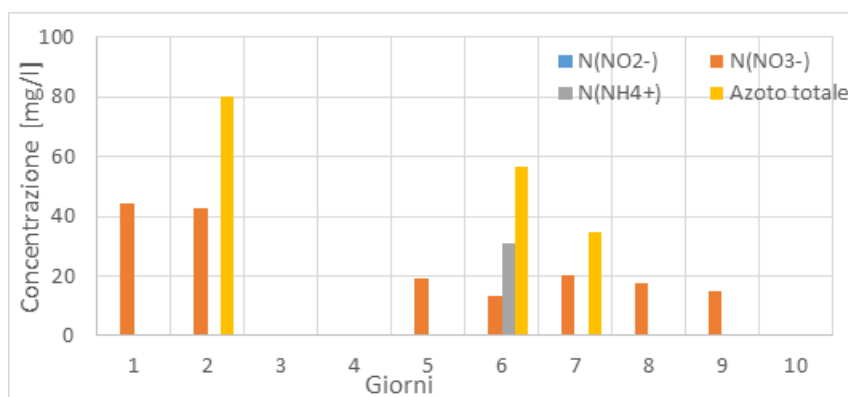


Figura 4.15-Concentrazioni di azoto nitrico, azoto nitroso, azoto ammoniacale e azoto totale in nitrificazione per HRT=40 giorni eseguito per 10 giorni con 300ml/giorno diluizione 1:10



Figura 4.16 -Concentrazioni di azoto nitrico, azoto nitroso, azoto ammoniacale e azoto totale in nitrificazione per HRT=40 giorni eseguito per 10 giorni con 300ml/giorno diluizione 1:10

4.3.3.4 Carico di ammonio 400 mg/l (diluizione digestato 1:5)

Successivamente si riportano, invece, i risultati relativi all'HRT=20 giorni in cui si è prevista un'alimentazione di 300 ml/giorno per due volte al giorno, quindi una ricarica di 600ml/giorno con diluizione 1:5 e quindi 400 mg/l di ammonio in ingresso, divisi in due ricariche.

Tabella 4.7-Concentrazioni dei composti azotati in nitrificazione per HRT= 20 giorni con alimentazione di 600ml/giorno (1:5).

Tempo [d]	NO ₂ - [mg/l]	NO ₃ - [mg/l]	Tempo [d]	NO ₂ - [mg/l]	NO ₃ - [mg/l]
1			15		
2	0,00	0,00	16		
3	0,00	14,45	17		
4	0,00	18,26	18		
5	0,00	17,50	19		
6	7,91	16,34	20		
7			21		
8			22		
9			23		
10			24	8,66	26,16
11			25	11,22	34,39
12			26	9,78	20,94
13			27	9,30	17,58

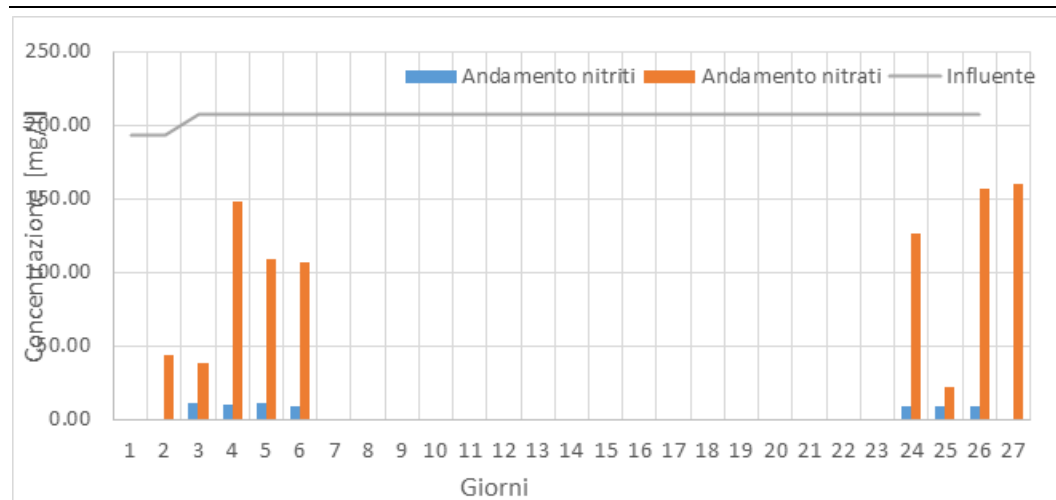


Fig. 4.17 - Andamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati in nitrificazione con HRT=20 giorni e alimentazione 600ml/giorno 1:5.

In questa fase l'alimentazione ha rispettato sempre i 600mg/l di digestato diluito, quindi non ci sono stati giorni in cui il reattore ha avuto poco azoto ammoniacale da convertire rispetto a quanto previsto; la concentrazione di ossigeno disciolto in denitrificazione ha consentito sempre il mantenimento delle condizioni di anossia, mentre la nitrificazione le concentrazioni erano di circa 8 mg/l. In nitrificazione si è registrato un aumento della concentrazione dei nitrati, mentre per quanto riguarda i nitriti, la concentrazione registrata è sempre da attribuire parzialmente (8 mg/l) ad un errore dell'IC. In denitrificazione tale accumulo di nitrati è sempre da attribuirsi al normale ricircolo tra la nitrificazione e la denitrificazione, quindi probabilmente l'aumento sostanziale, rispetto alla condizione precedente, della concentrazione dei nitrati in nitrificazione ha rallentato la cinetica dei *Pseudosomonas*.

Tabella 4.8 - Concentrazioni dei composti azotati in denitrificazione per HRT=20 giorni con alimentazione di 600ml/giorno (1:5)

Tempo [d]	NO ₂ - [mg/l]	NO ₃ - [mg/l]	Tempo [d]	NO ₂ - [mg/l]	NO ₃ - [mg/l]
48			63		
49	0	0	64		
50	0	14,45	65		
51	0	18,26	66		
52	0	17,50	67		
53	7,91	16,34	68		
54			69		
55			70		
56			71	8,66	26,16
57			72	11,22	34,39
58			73	9,78	20,94
59			74	9,30	17,58
60			75		
61			76		
62					

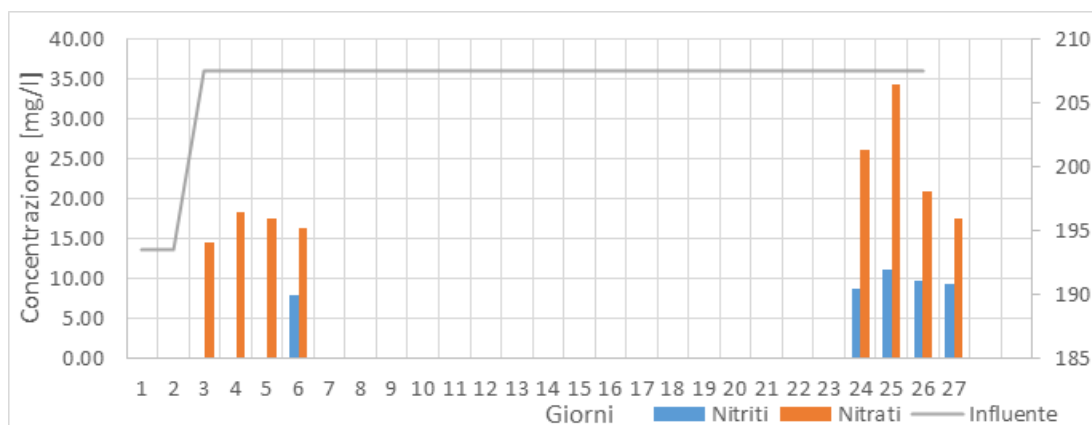


Figura 4.18 - Andamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati in denitrificazione con HRT=20 giorni e alimentazione 600ml/giorno 1:5.

Il seguente trend delle concentrazioni di azoto nitrico e nitroso conferma quanto riportato precedentemente per il processo di nitrificazione, l'efficienza del processo biologico rispetto alla rimozione dell'azoto sembrerebbe far registrare un trend anomalo rispetto a quelli precedenti sempre per la nitrificazione, tuttavia le concentrazioni di azoto totale, essendo la somma delle varie tipologie di azoto contenute nel digestato trattato, riporta trend crescenti proprio perché vi è un trend crescente nella trasformazione dell'azoto ammoniacale in nitrati, mentre l'azoto ammoniacale viene totalmente degradato dalla nitrificazione biologica.

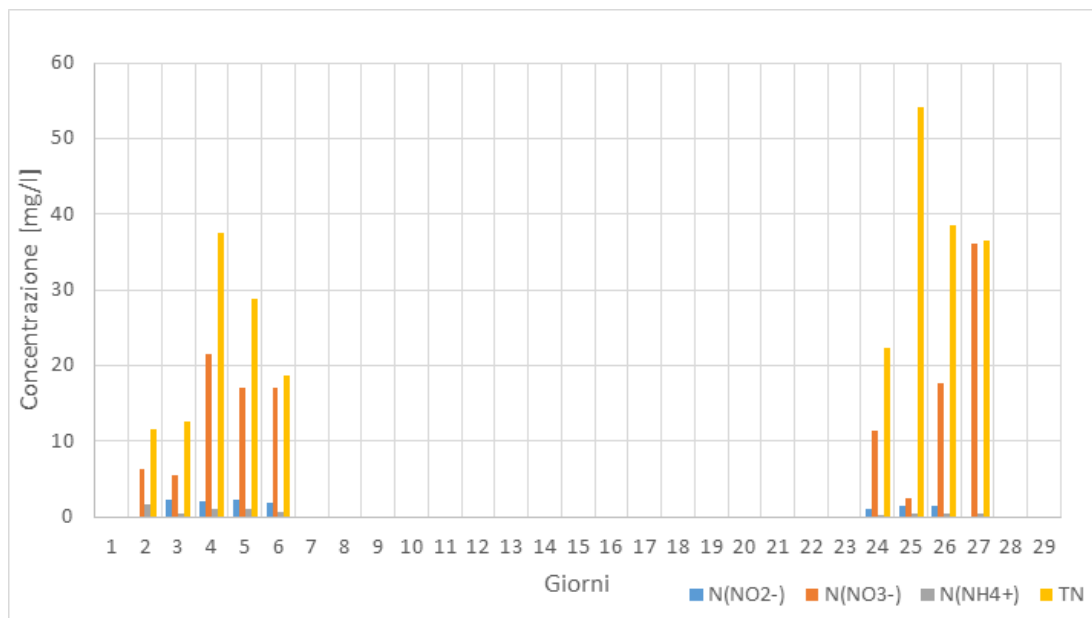


Figura 4.19 -Concentrazioni di azoto ammoniacale, azoto nitrico, azoto nitroso e azoto totale in nitrificazione per HRT=20 giorni con alimentazione di 600 ml/giorno (1:5) .

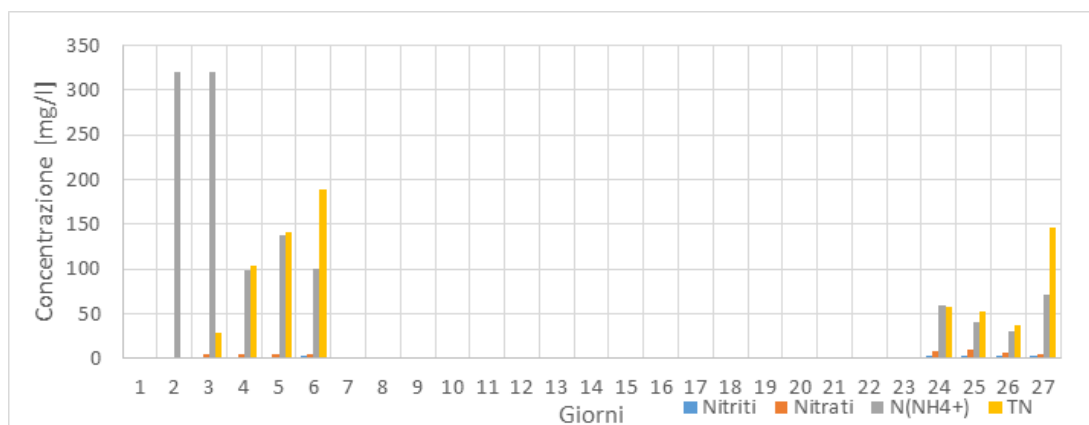


Figura 4.20 - Concentrazioni di azoto ammoniacale, azoto nitrico, azoto nitroso e azoto totale in denitrificazione per HRT = 20 giorni con alimentazione di 600 ml/giorno (1:5)

In denitrificazione le misure di N-NH_4^+ dei giorni 2 e 3 non sono rappresentative, probabilmente a causa di errori di preparazione dei campioni. Le concentrazioni dell'azoto totale sono effettivamente maggiori di quelle dei composti azotati presenti nel reattore, tuttavia il trend è crescente per l'azoto totale mentre per quello ammoniacale è costante nei primi dieci giorni e poi subisce una riduzione del 50%, legato all'alimentazione che avviene in questa fase. Le concentrazioni dell'azoto contenuto nei nitrati sono costanti, mentre i nitriti sono totalmente assenti. L'efficienza del processo di denitrificazione con questo HRT in questa fase non ha fatto registrare i risultati attesi in quanto si è avuto un incremento della concentrazione di azoto totale in denitrificazione rispetto a quanto verificato per la precedente fase lavorativa a 400 mg/l di ammonio, se si considera la concentrazione di 800 mg/l in ingresso la concentrazione di TN riscontrata è di circa 150 mg/l.

4.3.3.5 Carico di ammonio 800 mg/l (diluizione del digestato 1:5)

La successiva fase lavorativa si è svolta con un HRT di 10 giorni in cui la concentrazione del digestato all'interno del reattore è raddoppiata aumentando il numero di ricariche giornaliere, rimanendo invariata la diluizione del digestato, ripartendo quindi l'incremento del carico di ammonio in n.4 ricariche.

Tabella 4.9 -Concentrazioni dei composti azotati in nitrificazione e denitrificazione con HRT=10 giorni con alimentazione 1,2 l/giorno (1:5).

Nitrificazione			Denitrificazione		
Tempo [d]	NO_2^- [mg/l]	NO_3^- [mg/l]	Tempo [d]	NO_2^- [mg/l]	NO_3^- [mg/l]

77	9,14	206,82	77	8,39	16,77
78	8,11	0	78	9,10	136,60
78	0	147,22	78	0,00	13,74
79	0	139,06	79	8,11	14,01
80	-	140,73	80	8,28	15,15
81	9,78	136,94	81	9,64	16,01
82			82		
83			83		
84	7,99	195,05	84	8,00	20,63

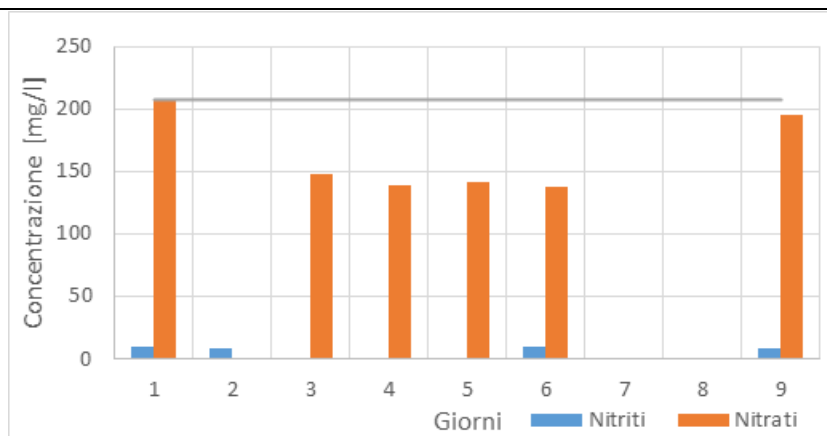


Figura 4.21-Andamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati in nitrificazione per HRT=10 giorni con alimentazione 1,2l/ giorno con diluizione 1:5.

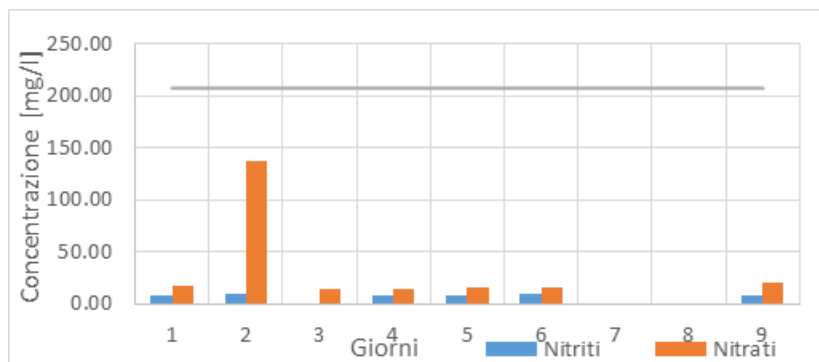


Figura 4.22 -Andamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati in denitrificazione per HRT=10 giorni con alimentazione 1,2l/ giorno con diluizione 1:5.

L'efficienza del processo di nitrificazione è migliorata rispetto alle condizioni precedenti, la concentrazione dei nitrati è aumentata mentre quella dei nitriti ha sempre andamento costante circa pari a 10 mg/l, ma escludendo l'errore dell'IC, le concentrazioni sono circa pari a 0 mg/l.

Le concentrazioni di nitrati con andamento decrescente in nitrificazione sono causate da problematiche tecniche legate alla mancata alimentazione del reattore poiché il digestato in ingresso, seppur diluito 1:5, ha ostruito i tubi utilizzati dalla pompa.

Per ovviare a questo problema, l'alimentazione è stata effettuata manualmente mentre il ricircolo dalla denitrificazione alla nitrificazione è rimasto collegato alla pompa con attivazione del timer in modo tale da consentire comunque il ricircolo giornaliero di 1,2l dalla denitrificazione alla nitrificazione, consentendo così comunque che l'azoto ammoniacale immesso venisse trasformato dai batteri nitrificanti.

Oltre ai problemi di alimentazione, si è riscontrato un rallentamento del processo di nitrificazione anche a causa dell'incremento, precisamente il raddoppio, dell'azoto ammoniacale fornito al reattore.

Sintomo di questa difficoltà del processo di nitrificazione è il rapido abbassamento della concentrazione di ossigeno disciolto da circa 8 mg/l il primo giorno di avvio del nuovo HRT a 1,8 mg/l del secondo giorno della prova, con concentrazioni di nitrati pari a 0 mg/l.

Successivamente al cambio della pietra porosa, l'ossigeno in nitrificazione si è riportato nuovamente a concentrazioni pari a 9 mg/l, consentendo quindi ai batteri nitrificanti la degradazione dell'azoto ammoniacale. Per tale motivo per il secondo giorno di questa fase sperimentale sono stati riportati due valori di concentrazione, ovvero uno relativo alla condizione con O_2 disciolto pari a 1,81 mg/l ($NO_3^- = 0$ mg/l in nitrificazione) e uno relativo a O_2 disciolto = 9,20 mg/l ($NO_3^- = 147,22$ mg/l).

Proprio in relazione al secondo giorno del nuovo HRT nel processo di denitrificazione si è registrato un incremento della concentrazione dei nitrati, portandosi da 16 mg/l a circa 130 mg/l, attribuibile al ricircolo tra nitrificazione e denitrificazione che ha immesso in denitrificazione parte dei nitrati della nitrificazione.

Il processo denitrificante ha complessivamente un trend decrescente dei NO_3^- , considerando il 2° giorno e il 9° giorno, tuttavia le concentrazioni dei nitrati sono crescenti, via via che la loro concentrazione aumenta nella nitrificazione.

Con il raddoppio del volume del digestato in ingresso il pH della nitrificazione si è portato verso valori di pH basico, ovvero da pH=8,58 a pH=9,20, salvo poi acidificarsi nuovamente il 9° giorno in cui il pH=8,58 nuovamente.

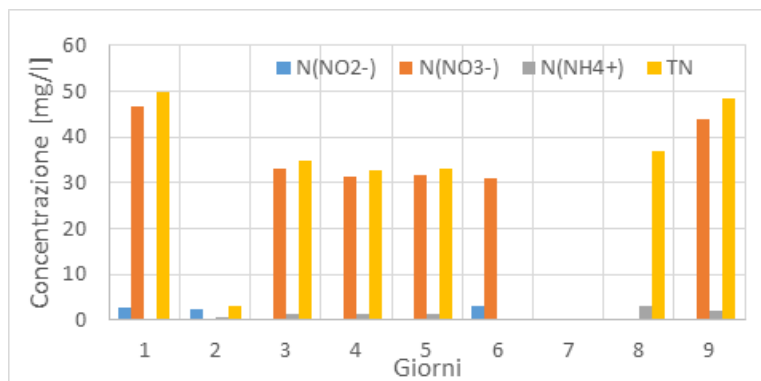


Figura 4.23- Concentrazioni dell'azoto ammoniacale, nitroso, nitrico e azoto totale in nitrificazione con HRT=10 giorni con alimentazione 1,2 l / giorni (1:5).

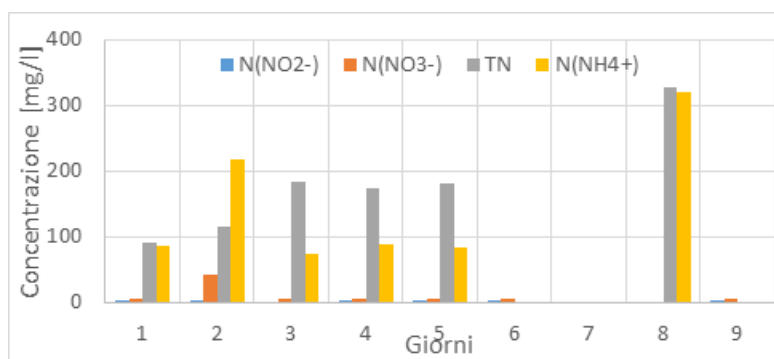


Figura 4.24- Concentrazioni dell'azoto ammoniacale, nitrico, nitroso e azoto totale in denitrificazione per HRT=10giorni con alimentazione di 1,2l /giorno (1:5).

In figura 4.24 si evince che rispetto alla concentrazione di TN, l'azoto ammoniacale è totalmente trasformato in azoto nitrico, infatti le concentrazioni di TN e di N-NO_3^- sono uguali. Quindi considerando che per il precedente carico di ammonio la concentrazione di azoto totale in nitrificazione era 40 mg/l, si può affermare che l'efficienza del processo di nitrificazione per quanto riguarda la riduzione dell'azoto totale è uguale, poiché si mantiene costante la concentrazione dei nitrati che si formano in tale fase.

In denitrificazione il trend complessivo della concentrazione di azoto totale è pressoché crescente, tuttavia, guardando i singoli giorni di analisi le concentrazioni sono rimaste sempre al di sotto dei 400mg/l :il contributo maggiore è dato dall'azoto ammoniacale fornito direttamente in denitrificazione. I nitrati e i nitriti, come ci si aspetta, hanno concentrazioni decrescenti, fino al progressivo annullamento. Il picco di 300 mg/l di azoto totale è totalmente coincidente con quello dell'azoto ammoniacale, pertanto questo incremento di azoto totale è totalmente attribuibile alla

manca di nitrati, causando difficoltà al processo: probabilmente a livello tecnico tale difficoltà è legata ad un mancato ricircolo tra nitrificazione e denitrificazione.

Considerando quindi la concentrazione di N-NH_4^+ immessa è apprezzabile la riduzione di circa $\frac{1}{4}$ di azoto ammoniacale registrata l'8° giorno: l'efficienza di rimozione di azoto ammoniacale in questo caso è dell'81 %. In merito alla rimozione di azoto totale la percentuale di rimozione è circa pari all'85% dall'inizio della sperimentazione.

4.3.3.6 Carico di ammonio 1200 mg/l (digestato diluito 1.5)

Poiché il processo biologico risulta avviato, si è incrementata l'alimentazione del digestato a n.3 ricariche al giorno da 600 ml diluiti 1:5 : il volume di digestato immesso è quindi pari a 360 ml/giorno suddiviso in tre ricariche da 120 ml ciascuna. Si è notato che incrementando il digestato non si ha un accumulo di nitriti mentre la concentrazione di nitrati ha un netto incremento. L'alimentazione è stata ulteriormente incrementata a n.4 ricariche giornaliere per un volume totale di 480 ml/ giorno a partire dal giorno 4 (figura 59), tuttavia a causa di un problema nella calibrazione del flusso della pompa di alimentazione il digestato in ingresso è di circa 900 ml a fronte dei 480 ml previsti : questo raddoppio di digestato non ha influito negativamente sulle cinetiche dei batteri nitrificanti né sui denitrificanti, consentendo il mantenimento, inoltre, dei parametri ottimali per quanto riguarda l'ossigeno disciolto in nitrificazione e in denitrificazione. Nell'ultima parte della fase sperimentale, quindi, è stato incrementato di volta in volta sia il numero di ricariche giornaliere sia il quantitativo di digestato immesso, in modo tale da valutare l'efficienza del processo biologico avviato anche per portate maggiori.

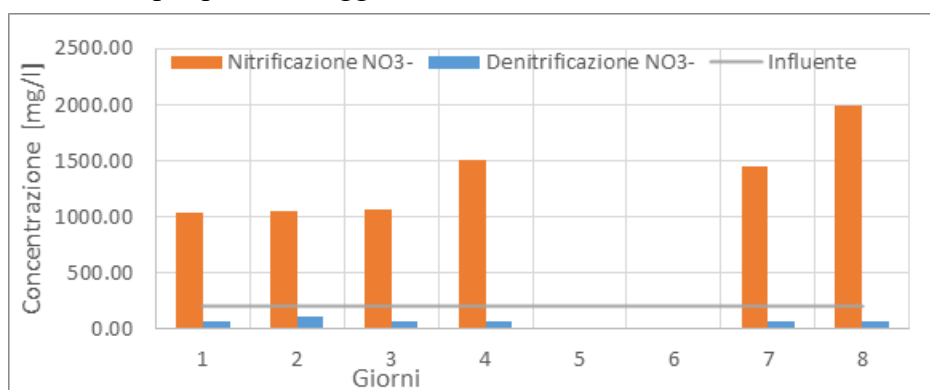


Figura 4.25 - Trend azoto nitrico (NO_3^-) considerando differenti modalità di alimentazione. Confronto trend in nitrificazione e denitrificazione.

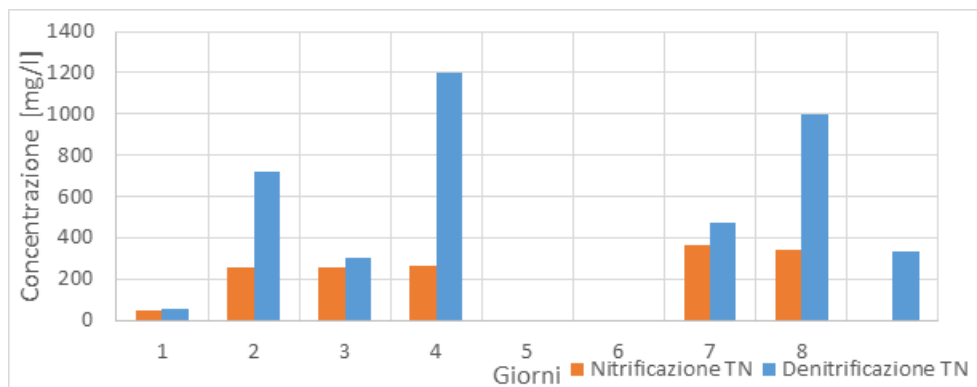


Figura 4.26 - Trend dell'azoto totale (TN) in nitrificazione e in denitrificazione.

Analizzando il confronto tra il trend dell'azoto totale (TN) in nitrificazione e quello in denitrificazione, sostanzialmente si evince che con il cambio di alimentazione, l'azoto totale in nitrificazione tende ad aumentare (da 200 mg/l a 300 mg/l), dovuto all'aumento della concentrazione di nitrati; contemporaneamente l'azoto totale in denitrificazione ha fatto registrare concentrazioni con trend crescenti nei primi 4 giorni e poi decrescenti quando si è aumentato il numero di ricariche. La riduzione complessiva dell'azoto totale in denitrificazione dall'inizio della sperimentazione è del 50%.

4.3.3.7 Aumento del carico di ammonio: digestato non diluito

Trattandosi di volumi abbastanza elevati, si è deciso di non diluire più il digestato da alimentare ma inserire nel reattore la sola frazione di digestato contenuta in ogni ricarica, in questo modo i volumi circolanti diminuiscono e si considera solo il digestato concentrato, al fine di ottenere una concentrazione del reattore 1:1, eliminando l'acqua usata nelle diluizioni del digestato per avviare il processo.

L'alimentazione del reattore è stata poi ulteriormente incrementata e portata a regime, simulando l'alimentazione reale dell'impianto in cui ogni ricarica, per un totale di n.4 ricariche giornaliere, adduce all'impianto un volume di digestato pari a 1/16 della vasca di nitrificazione: sono state previste quindi n.4 ricariche al giorno ciascuna di 300 ml, avendo quindi un HRT a regime pari a circa 10 giorni.

Le ricariche sono state incrementate a n.6/giorno da 300 ml di digestato 1:1.

Si riporta di seguito il trend dei nitrati confrontando il processo di nitrificazione e quello di denitrificazione, trascurando le concentrazioni dei nitriti poiché sono intermedio di trasformazione dell'azoto ammoniacale e poiché le concentrazioni rilevate sono attribuibili ad un errore strumentale.

A partire dal giorno 8, in cui si è incrementato il carico di ammonio, si registra una diminuzione nella concentrazione dei nitrati in nitrificazione contestualmente ad un accumulo di nitriti nella medesima fase.

Questa variazione nel funzionamento del processo biologico è da attribuirsi al cambio nella modalità di alimentazione del reattore, poiché si è incrementato il digestato 1:1 in ingresso, immettendone giornalmente un volume pari a 1,2 l suddiviso in 4 ricariche. Dal punto di vista della concentrazione di ammonio nell'influente si è passati a circa 700 mg/l. Bisogna considerare anche che sulla diminuzione dei nitrati in nitrificazione incidono anche i problemi legati alla mancata alimentazione a causa di problemi legati sia al lavorare con reflui reali, ad alto tenore di solidi, che alla strumentazione. L'aumento della concentrazione di azoto ammoniacale in ingresso dal giorno ha quindi inibito, come accaduto nei casi precedenti, la trasformazione operata dai Nitrobacter e, a causa del ricircolo tra la nitrificazione e la denitrificazione attuato mediante il troppo pieno della nitrificazione, sono stati immessi nella denitrificazione parte dei nitriti non ancora trasformati e parte dei nitrati stessi, aumentando le concentrazioni di azoto nitroso e nitrico in denitrificazione che prima del cambio di alimentazione erano trascurabili.

A fronte di tale rallentamento nei processi di degradazione dell'azoto ammoniacale, specialmente nella nitrificazione, si è innalzata la portata di ossigeno insufflata, poiché precedentemente, essendo stabile il processo biologico, si era abbassata tale portata, simulando un risparmio energetico.

A causa di questo incremento di digestato, nonostante l'aumento dell'insufflazione di ossigeno in nitrificazione, l'ossigeno disciolto è costante e pari circa a 6,5 mg/l ; la denitrificazione mantiene le condizioni di anossia con concentrazione di ossigeno disciolto pari a 0,05 mg/l.

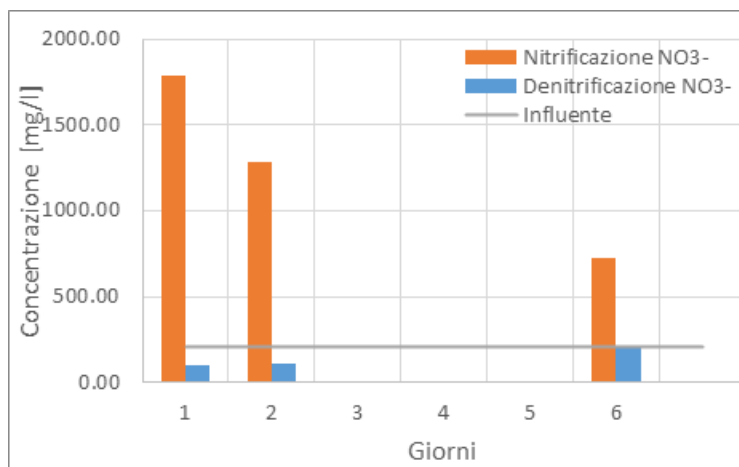


Figura 4.27-Trend azoto nitrico (NO3-) considerando differenti modalità di alimentazione

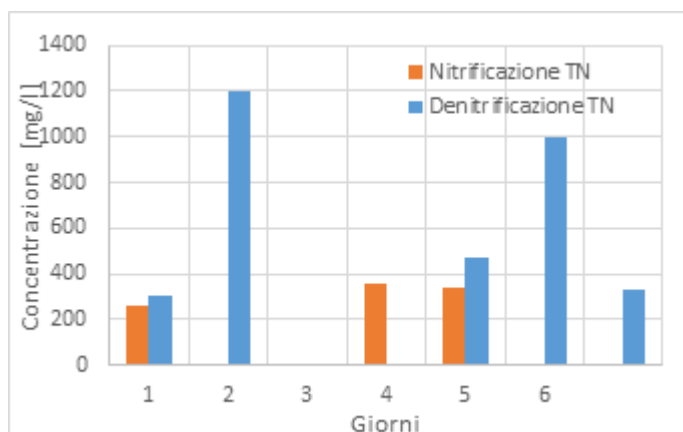


Figura 4.28 -Trend dell'azoto totale (TN) in nitrificazione e in denitrificazione

L'aumento di carico di ammonio ha ridotto la concentrazione dei nitrati in nitrificazione, rallentando anche il processo di nitrificazione in cui i nitrati aumentano a causa probabilmente di ricircoli tra nitrificazione e denitrificazione anche quando l'alimentazione ha avuto problemi legati alle pompe.

L'azoto totale, obiettivo del lavoro ha però subito una riduzione in denitrificazione, portandosi a concentrazioni di 390 mg/l in uscita dal processo, quindi permane stazionaria la riduzione dell'azoto totale del 50% che si intendeva raggiungere in condizioni di alimentazione del reattore a regime, rispettando quindi il numero e il volume di ricariche utilizzate nell'impianto in scala reale.

4.3.4 Prove di rimozione tramite stripping

Le prove batch su digestato filtrato mostrano rimozioni apprezzabili di N-NH_4^+ solo a pH elevati (≈ 9.95 – 10.25), coerentemente con l'aumento della frazione di ammoniaca libera e con la letteratura su stripping e sistemi integrati di recupero ammoniaca (Campos et al., 2013; Jiang et al., 2014; Yao et al., 2017; Palakodeti et al., 2022a; Yellezuome et al., 2022). Questo conferma il ruolo dello stripping come polishing in condizioni controllate piuttosto che come driver primario di rimozione in esercizio ordinario.

I campioni di digestato sono stati portati a valori di pH prestabiliti:

- n.1 pH=8,151 campione inalterato
- n.2 pH=8,451 (aggiungendo al campione n.1 2,8 mL NaOH 1M)
- n.3 pH=8,751 (aggiungendo al campione n.1 6mL NaOH 1M)
- n.4 pH=9,051 (aggiungendo al campione n.3 1,06 mL NaOH 1M)
- n.5 pH=9,351 (aggiungendo al campione n.3 2mL NaOH 1M+1,7 HCl 1M)
- n.6 pH=9,651 (aggiungendo al campione n.3 4,5 mL NaOH 1M)
- n.7 pH=9,951 (aggiungendo al campione n.3 4,8 mL NaOH 1M+0,21 HCl 1M)

n.8 pH=10,251 (aggiungendo al campione n.3 7,5 mL NaOH 1M+0.095 HCl 1M)

Di seguito si riportano i risultati derivanti dalle misure della concentrazione di N-NH₄⁺ per i campioni di digestato non diluito portati a diversi valori di pH:

dil.1:500						
assorbanza 690 nm						
n.	1 valore	2 valore	3 valore	media	valore conc.	valore finale (mg/l)
1	1,788	1,788	1,788	1,788	1,179	589,283
2	1,752	1,747	1,752	1,750	1,152	576,079
3	1,574	1,57	1,569	1,571	1,026	513,214
4	1,609	1,605	1,607	1,607	1,052	525,834
5	1,567	1,576	1,571	1,571	1,027	513,331
6	1,551	1,549	1,55	1,550	1,012	505,853
7	1,426	1,424	1,423	1,424	0,924	461,800
8	1,453	1,458	1,452	1,454	0,945	472,317

Tabella 4.11-Risultati concentrazioni azoto ammoniacale 1° giorno.

dil.1:500						
assorbanza 690 nm						
n.	1 valore	2 valore	3 valore	media	valore conc.	valore finale (mg/l)
1	1,298	1,292	1,293	1,294	0,832	416,229
2	1,417	1,419	1,429	1,422	0,922	460,865
3	1,552	1,556	1,554	1,554	1,015	507,255
4	1,893	1,895	1,897	1,895	1,254	626,792
5	1,432	1,435	1,43	1,432	0,929	464,604
6	1,406	1,388	1,396	1,397	0,904	452,102
7	0,975	0,978	0,976	0,976	0,610	304,754
8	0,78	0,785	0,779	0,781	0,473	236,396

Tabella 4.12-Risultati concentrazioni azoto ammoniacale 4° giorno.

dil.1:500						
assorbanza 690 nm						
n.	1 valore	2 valore	3 valore	media	valore conc.	valore finale (mg/l)
1	1,703	1,711	1,702	1,705	1,121	560,305
2	1,837	1,834	1,834	1,835	1,212	605,759
3	1,058	1,054	1,051	1,054	0,664	332,097
4	1,354	1,353	1,352	1,353	0,874	436,794
5	1,296	1,305	1,304	1,302	0,838	418,799
6	1,607	1,752	1,604	1,654	1,085	542,427
7	1,668	1,667	1,67	1,668	1,095	547,334
8	1,177	1,174	1,175	1,175	0,749	374,513

Tabella 4.13-Risultati concentrazioni azoto ammoniacale 5° giorno.

dil.1:500						
assorbanza 690 nm						
n.	1 valore	2 valore	3 valore	media	valore conc.	valore finale (mg/l)
1	1,739	1,74	1,738	1,739	1,144	572,106
2	1,258	1,265	1,245	1,256	0,806	402,791
3	1,311	1,31	1,31	1,310	0,844	421,837
4	1,379	1,378	1,377	1,378	0,891	445,558
5	1,164	1,165	1,164	1,164	0,741	370,657
6	1,106	1,107	1,106	1,106	0,701	350,325
7	1,624	1,627	1,636	1,629	1,067	533,546
8	0,559	0,56	0,562	0,560	0,318	158,925

Tabella 4.14-Risultati concentrazioni azoto ammoniacale 6° giorno

dil.1:500						
assorbanza 690 nm						
n.	1 valore	2 valore	3 valore	media	valore conc.	valore (mg/l)
1	1,764	1,763	1,762	1,763	1,161	580,520
2	1,391	1,393	1,394	1,393	0,901	450,699
3	1,759	1,762	1,762	1,761	1,160	579,819
4	1,232	1,223	1,234	1,230	0,787	393,560
5	1,4	1,389	1,393	1,394	0,902	451,167
6	1,272	1,26	1,261	1,264	0,811	405,712
7	0,827	0,836	0,828	0,830	0,507	253,573
8	1,004	1,005	1,005	1,005	0,629	314,686

Tabella 4.15-Risultati concentrazioni azoto ammoniacale 7° giorno.

dil.1:500						
assorbanza 690 nm						
n	1 valore	2 valore	3 valore	media	valore conc.	valore finale (mg/l)
1	1,868	1,873	1,872	1,871	1,237	618,379
2	2,089	2,084	2,087	2,087	1,388	693,981
3	1,669	1,667	1,668	1,668	1,094	547,217
4	2	2	2,002	2,001	1,328	663,834
5	1,745	1,784	1,748	1,759	1,158	579,117
6	1,67	1,654	1,653	1,659	1,088	544,062
7	1,811	1,814	1,798	1,808	1,192	596,178
8	1,03	1,03	1,038	1,033	0,649	324,501

Tabella 4.16-Risultati concentrazioni azoto ammoniacale 8° giorno.

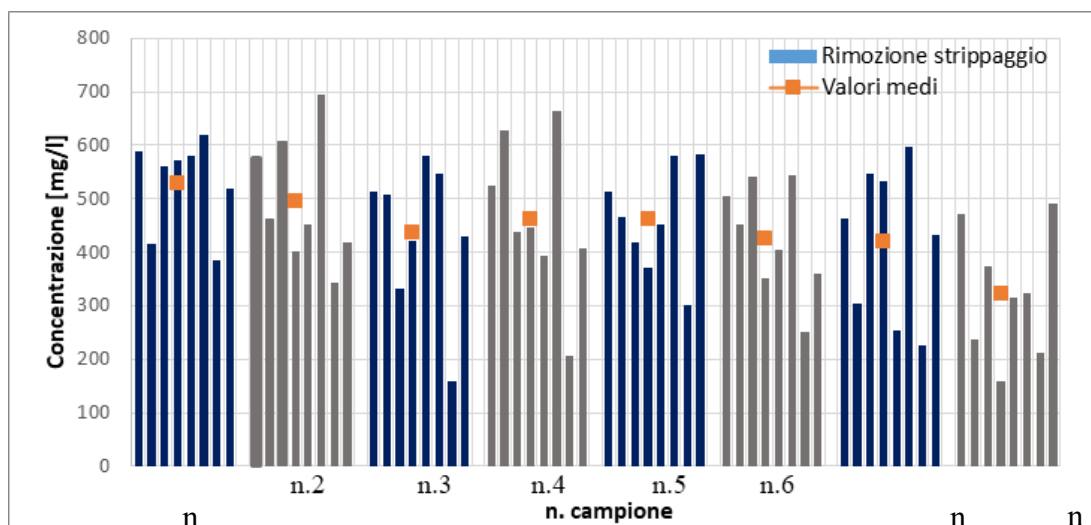


Figura 4.29-Concentrazioni di $N(NH_4^+)$ nei campioni a diversi pH per strippaggio.

Dai risultati soprariportati si evince che una vera e propria rimozione dell' $N-NH_4^+$ avviene sostanzialmente per pH elevati rispetto a quelli che sono stati misurati nella vasca di nitrificazione e di denitrificazione del reattore da laboratorio.

Si riscontra quindi una più elevata rimozione dell'azoto ammoniacale mediante strippaggio per i campioni con pH = 9,951 e pH = 10,251.

La concentrazione di azoto ammoniacale nel digestato all'avvio della prova è di 967,5 mg/l.

Considerando che il pH del reattore rientra nel range di pH individuato dai campioni n.2 e n.3, la concentrazione di azoto ammoniacale alla fine della prova per questi due campioni è di circa 400 mg/l, mentre il campione n.6 che ha pH = 9,651 la concentrazione è leggermente più bassa, intorno ai 350 mg/l. Considerando, tuttavia, l'andamento delle concentrazioni per tutti i campioni durante l'intera prova, la rimozione è maggiore per il campione n.8.

Questi risultati confermano, quindi, che il processo biologico avviato all'interno del reattore è il principale mezzo attraverso il quale avviene la degradazione dell'azoto ammoniacale presente del digestato trattato. Avendo quindi escluso la rimozione chimica dei composti azotati, le prove di strippaggio sono state fermate.

4.3.5 Prove di rimozione fosforo tramite precipitazione della struvite

I campioni di digestato con una concentrazione di Mg= 122.9 mg/l sono stati portati a valori di pH prestabiliti:

- n.1 pH=7,62 campione inalterato
- n.2 pH=8,12 (aggiungendo al campione n.1 1,2 mL NaOH 1M)
- n.3 pH=8,62 (aggiungendo al campione n.3 2,02 mL NaOH 1M+0,88 mL HCl)

- n.4 pH=9,12 (aggiungendo al campione n.1 2 mL NaOH 1M+0,01 mL HCl)
- n.5 pH=9,62 (aggiungendo al campione n.1 2,7mL NaOH 1M+0,05 HCl 1M)
- n.6 pH=10,12 (aggiungendo al campione n.1 3,5mL NaOH 1M)
- n.7 pH=10,62 (aggiungendo al campione n.1 6,95 mL NaOH 1M)
- n.8 pH=11,12 (aggiungendo al campione n.1 6 mL NaOH 1M)
- n.9 pH=11,62 (aggiungendo al campione n.1 10 mL NaOH 1M+0,05 HCl 1M)

Preparati i campioni sono state successivamente svolte le analisi all'IC ricavando le seguenti concentrazioni di fosforo contenute nei fosfati: in particolare si riportano le concentrazioni di $P-PO_4^{3-}$ e i valori di pH all'inizio e al termine della sperimentazione svoltasi nell'arco temporale di un mese.

		Analisi 5/12			Analisi 13/01	
Campione	pH	PO_4^{3-} (mg/l)	$P-PO_4^{3-}$ (mg/l)	pH	PO_4^{3-} (mg/l)	$P-PO_4^{3-}$ (mg/l)
1	7,62	420,669	137,270	7,403	430,313	140,418
2	8,12	521,78	170,265	7,495	370,229	120,812
3	8,62	619,454	202,137	7,471	508,206	165,836
4	9,12	418,148	136,448	7,722	394,821	128,836
5	9,62	491,557	160,402	7,755	353,984	115,511
6	10,12	373,829	121,986	8,663	571,449	186,473
7	10,62	266,892	87,091	9,511	191,699	62,554
8	11,12	370,221	120,808	9,249	91,964	30,009
9	11,62	245,445	80,0925	9,869	397,269	129,635

Tabella 4.17- Risultati concentrazione di fosfati

Le analisi sui campioni n.3 e n.8 non sono state ritenute attendibili in quanto, a causa di errori nella procedura di modifica del pH per titolazione o causa di poca omogeneità del campione preparato, il volume di HCl o NaOH aggiunto a ciascun campione non era congruente con quello dei campioni a pH simile. Dalle analisi all'IC le concentrazioni più basse di PO_4^{3-} sono state riscontrate per pH=11,62 all'inizio della prova sperimentale, quindi esclusi i campioni citati in precedenza, la concentrazione dei fosfati ha un trend decrescente in tutti i campioni precedenti fatta eccezione per la concentrazione del campione n.5. Considerando, tuttavia, la concentrazione dei fosfati nel digestato utilizzato per la prova, si è riscontrato nei campioni a pH modificato un aumento di tali concentrazioni per i campioni n.2, n.3 e n.5, pertanto tali campioni non

sono stati ritenuti rappresentativi; sono stati analizzati, quindi, i campioni restanti, ovvero il n.4, n.6,n.7 e il n.9 per i quali si è riscontrato un trend decrescente nelle concentrazioni dei nitrati, individuando come pH migliore per la precipitazione della struvite quello del campione n.9. Al termine della prova i pH dei campioni sono totalmente diversi da quelli fissati all'inizio della prova, pertanto è risultato difficile confrontare con precisione la variazione delle concentrazioni.

Al termine della prova, escludendo i campioni esposti in precedenza, la concentrazione di fosforo contenuto nei fosfati è minore nel campione n.7 con pH=9.511. All'inizio della prova sperimentale, quindi, dopo un giorno dalla preparazione dei campioni, si è registrata una riduzione del fosforo del 62% circa, pertanto come dal confronto con il software Visual Minteq, si tratta di una soluzione sovrassatura per quanto riguarda la struvite, quindi dai dati sperimentali la rimozione del fosforo contenuto nel digestato zootecnico è possibile mediante la precipitazione come struvite. Dopo circa un mese per lo stesso campione n.9 che all'inizio della prova era quello per cui la percentuale di precipitazione era più alta, la concentrazione di fosforo contenuto nei fosfati è aumentata di 40 mg/l, quindi sembrerebbe che abbassandosi il pH il fosforo precipitato come struvite ritorni a solubilizzarsi nel campione. L'analisi IC dei campioni a pH impostato (7.6–11.6) indica il potenziale di precipitazione come struvite con rimozioni elevate a pH alcalini, ma anche sensibilità a pH/rapporti molari e rischio di ri-solubilizzazione al decrescere del pH, in linea con la pratica di recupero di nutrienti da digestati e con la produzione di fertilizzanti bio-based (Sigurnjak et al., 2019; Saju et al., 2022). L'impiego agronomico dei sali ammoniacali recuperati è coerente con gli scenari di sostituzione di N minerale e con gli obiettivi di circolarità (Reuland et al., 2021; Rietra et al., 2024).

4.4 Conclusioni

In questo lavoro è stato verificato che il trattamento biologico in SBR del digestato da reflui zootecnici può essere avviato e mantenuto con prestazioni stabili, nonostante le criticità iniziali osservate a scala reale legate all'accumulo di nitriti, ai ricircoli e al controllo dell'ossigeno; la prova pilota ha confermato che la riduzione dell'azoto avviene prevalentemente per via biologica con completa conversione dell' N-NH_4^+ in N-NO_3^- , escludendo contributi significativi da strippaggio. In scala di laboratorio l'impianto ha richiesto circa 30 giorni per l'assestamento e ha mostrato sensibilità a HRT e diluizione, ma anche una buona resilienza all'aumento del carico fino al regime 1:1, purché siano mantenuti adeguati setpoint di ossigeno in nitrificazione e condizioni

anossiche in denitrificazione e sia bilanciato il ricircolo. L'obiettivo operativo è stato raggiunto con un'uscita di TN intorno a 390–400 mg/L, corrispondente a una riduzione $\geq 50\%$ rispetto all'influente equivalente non diluito, con implicazioni positive sul rispetto del limite di spandimento in ZVN e sulla riduzione della superficie agraria necessaria. Le prove di ammoniaca stripping hanno evidenziato rimozioni apprezzabili solo a pH elevati prossimi a 10, condizioni non tipiche dell'esercizio ordinario, confermando il ruolo marginale del metodo come polishing; le prove di precipitazione del fosforo come struvite hanno mostrato un potenziale di abbattimento significativo ma hanno anche evidenziato la necessità di un rigoroso controllo di pH e dei rapporti molari per evitare ri-solubilizzazione. Nel complesso i risultati supportano la scalabilità del processo, definiscono le condizioni di esercizio più robuste in termini di DO, pH, HRT e ricircoli e indicano un percorso di ottimizzazione integrata biologico-chimica finalizzato alla conformità normativa e alla gestione più efficiente del digestato.

4.5 Bibliografia

Ajayi-Banji, A.A., Rahman, S., Sunoj, S., & Igathinathane, C. (2020). Impact of corn stover particle size and C/N ratio on reactor performance in solid-state anaerobic co-digestion with dairy manure. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 70, 436–454. <https://doi.org/10.1080/10962247.2020.1729277>

Algapani, D.E., Qiao, W., Ricci, M., Bianchi, D., Wandera, S.M., Adani, F., & Dong, R. (2019). Bio-hydrogen and bio-methane production from food waste in a two-stage anaerobic digestion process with digestate recirculation. *Renewable Energy*, 130, 1108–1115. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.08.079>

Astuti, W., Hirajima, T., Sasaki, K., & Okibe, N. (2016). Comparison of effectiveness of citric acid and other acids in leaching of low-grade Indonesian saprolitic ores. *Minerals Engineering*, 85, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2015.10.001>

Bayrakdar, A., Molaey, R., Sürmeli, R.Ö., Sahinkaya, E., & Çalli, B. (2017). Biogas production from chicken manure: Co-digestion with spent poppy straw. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.058>

Bonanomi, G., Sarker, T.C., Zotti, M., Cesarano, G., Allevato, E., & Mazzoleni, S. (2019). Predicting nitrogen mineralization from organic amendments: beyond C/N

ratio by ^{13}C -CPMAS NMR approach. *Plant and Soil*, 441, 129–146. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04099-6>

Campos, J.C., Moura, D., Costa, A.P., Yokoyama, L., Araujo, F.V.D.F., Cammarota, M.C., & Cardillo, L. (2013). Evaluation of pH, alkalinity and temperature during air stripping process for ammonia removal from landfill leachate. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48, 1105–1113. <https://doi.org/10.1080/10934529.2013.774658>

Capson-Tojo, G., Moscoviz, R., Astals, S., Robles, Á., & Steyer, J.-P. (2020). Unraveling the literature chaos around free ammonia inhibition in anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 117, 109487. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109487>

Chen, H., Yang, T., Shen, Z., Yang, E., Liu, K., Wang, H., Chen, J., Sanjaya, E.H., & Wu, S. (2022). Can digestate recirculation promote biohythane production from two-stage co-digestion of rice straw and pig manure? *Journal of Environmental Management*, 319, 115655. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115655>

Gas for Climate (2022). Feasibility of REPowerEU 2030 targets: Biomethane production potentials in the EU. <https://gasforclimate2050.eu/>

COPA-COGECA; European Biogas Association; Novafert; Nutri2Cycle (2023). Unlocking the safe use of digestate in the INMAP: An opportunity for nutrients recycling and on-farm circularity. https://www.europeanbiogas.eu/wp-content/uploads/2023/06/Open-Letter_Digestate-in-INMAP.pdf

De Neve, S., & Hofman, G. (1996). Modelling N mineralization of vegetable crop residues during laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, 28, 1451–1457. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00154-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00154-X)

D’Haene, A., & Vannecke, T. (2019). VCM-enquête: operationele stand van zaken mestverwerking in Vlaanderen. https://cdn.digisecure.be/vcm/2020921154525687_rapport-vcm-enquete-mestverwerking-2019.pdf

European Commission (2019). The European Green Deal. COM(2019) 640 final, Brussels, 11 December 2019.

European Commission (2022). REPowerEU Plan. COM(2022) 230 final, Brussels, 18 May 2022.

European Union (2020). Technical Proposals for the Safe Use of Processed Manure above the Threshold Established for Nitrate Vulnerable Zones (91/676/EEC). EUR 30363 EN. Publications Office of the European Union, Luxembourg.

Ghyselbrecht, K., Monballiu, A., Somers, M.H., Sigurnjak, I., Meers, E., Appels, L., & Meesschaert, B. (2018). Stripping and scrubbing of ammonium using common fractionating columns to prove ammonium inhibition during anaerobic digestion. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*, 9, 447–455. <https://doi.org/10.1007/s40095-018-0283-7>

Hagemann, N., Harter, J., & Behrens, S. (2016). Elucidating the impacts of biochar applications on nitrogen cycling microbial communities. In: *Biochar Application: Essential Soil Microbial Ecology* (pp. 3–198). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803433-0.00007-2>

Jamaludin, Z., Rollings-Scattergood, S., Lutes, K., & Vaneeckhaute, C. (2018). Evaluation of sustainable scrubbing agents for ammonia recovery from anaerobic digestate. *Bioresource Technology*, 270, 596–602. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.007>

Jiang, Y., McAdam, E., Zhang, Y., Heaven, S., Banks, C., & Longhurst, P. (2019). Ammonia inhibition and toxicity in anaerobic digestion: A critical review. *Journal of Water Process Engineering*, 32, 100899. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100899>

Jiang, A., Zhang, T., Zhao, Q.B., Li, X., Chen, S., & Frear, C.S. (2014). Evaluation of an integrated ammonia stripping, recovery, and biogas scrubbing system for use with anaerobically digested dairy manure. *Biosystems Engineering*, 119, 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2013.10.008>

Khalil, M.I., Rahman, M.S., Schmidhalter, U., & Olf, H. (2007). Nitrogen fertilizer–induced mineralization of soil organic C and N in six contrasting soils of Bangladesh. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170, 210–218. <https://doi.org/10.1002/jpln.200520534>

Lin, Y., Lv, H., Ke, J., Song, Q., Sheng, N., Chen, C., & Wen, Z. (2025). Dynamic nitrogen metabolism in urban environments: Cross-sectoral and cross-media insights for sustainable management. *Resources, Environment and Sustainability*, 19, 100193. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2025.100193>

Liu, J., Wang, S., Zhao, B., Tong, H., & Chen, C. (2009). Absorption of carbon dioxide in aqueous ammonia. *Energy Procedia*, 1, 933–940. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2009.01.124>

Luo, H., Robles-Aguilar, A.A., Sigurnjak, I., Michels, E., & Meers, E. (2021). Assessing nitrogen availability in biobased fertilizers: Effect of vegetation on mineralization patterns. *Agriculture*, 11, 870. <https://doi.org/10.3390/agriculture11090870>

Ma, Q., Wu, L., Wang, J., Ma, J., Zheng, N., Hill, P.W., Chadwick, D.R., & Jones, D.L. (2018). Fertilizer regime changes the competitive uptake of organic nitrogen by wheat and soil microorganisms: An in-situ uptake test using ¹³C, ¹⁵N labelling, and ¹³C-PLFA analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 125, 319–327. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.08.009>

Molaey, R., Bayrakdar, A., Sürmeli, R.Ö., & Çalli, B. (2018). Anaerobic digestion of chicken manure: Mitigating process inhibition at high ammonia concentrations by selenium supplementation. *Biomass and Bioenergy*, 108, 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.10.050>

Palakodeti, A., Azman, S., Dewil, R., & Appels, L. (2022a). Novel approach to ammonia recovery from anaerobic digestion via side-stream stripping at multiple pH levels. *Bioresource Technology*, 361, 127685. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127685>

Palakodeti, A., Azman, S., Dewil, R., & Appels, L. (2022b). Ammonia recovery from organic waste digestate via gas–liquid stripping: Application of the factorial design of experiments and comparison of the influence of the stripping gas. *Sustainability*, 14, 17000. <https://doi.org/10.3390/su142417000>

Poirier, S., Desmond-Le Quémener, E., Madigou, C., Bouchez, T., & Chapleur, O. (2016). Anaerobic digestion of biowaste under extreme ammonia concentration: Identification of key microbial phylotypes. *Bioresource Technology*, 207, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.124>

Reuland, G., Sigurnjak, I., Dekker, H., Michels, E., & Meers, E. (2021). The potential of digestate and the liquid fraction of digestate as chemical fertiliser substitutes under the RENURE criteria. *Agronomy*, 11, 1374. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071374>

Rietra, R., van Dijk, K., & Schoumans, O. (2024). Environmental effects of using ammonium sulfate from animal manure scrubbing technology as fertilizer. *Applied Sciences*, 14, 4998. <https://doi.org/10.3390/app14124998>

Saju, A., Ryan, D., Sigurnjak, I., Germaine, K., Dowling, D.N., & Meers, E. (2022). Digestate-derived ammonium fertilizers and their blends as substitutes to synthetic nitrogen fertilizers. *Applied Sciences*, 12, 3787. <https://doi.org/10.3390/app12083787>

Sarker, S., Lamb, J.J., Hjelme, D.R., & Lien, K.M. (2018). Overview of recent progress towards in-situ biogas upgradation techniques. *Fuel*, 226, 686–697. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.04.021>

Scarlat, N., Fahl, F., Dallemand, J.F., Monforti, F., & Motola, V. (2018). A spatial analysis of biogas potential from manure in Europe. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 94, 915–930. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.06.035>

Sigurnjak, I., Brienza, C., Snauwaert, E., De Dobbelaere, A., De Mey, J., Vaneeckhaute, C., Michels, E., Schoumans, O., Adani, F., & Meers, E. (2019). Production and performance of bio-based mineral fertilizers from agricultural waste using ammonia (stripping-)scrubbing technology. *Waste Management*, 89, 265–274. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.03.043>

Sigurnjak, I., De Waele, J., Michels, E., Tack, F.M.G., Meers, E., & De Neve, S. (2017). Nitrogen release and mineralization potential of derivatives from nutrient recovery processes as substitutes for fossil fuel-based nitrogen fertilizers. *Soil Use and Management*, 33, 437–446. <https://doi.org/10.1111/sum.12366>

Song, Y., Hu, W., Qiao, W., Westerholm, M., Wandera, S.M., & Dong, R. (2022). Upgrading the performance of high-solids feeding anaerobic digestion of chicken manure under extremely high ammonia level. *Renewable Energy*, 194, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2022.05.100>

Starmans, D.A.J., & Melse, R.W. (2011). Alternatieven voor zwavelzuur in chemische luchtwassers (Alternatives for the use of sulphuric acid in air scrubbers). Report no. 385. <https://edepot.wur.nl/163071>

Wang, Y., Yuan, Z., & Tang, Y. (2021). Enhancing food security and environmental sustainability: A critical review of food loss and waste management. *Resources, Environment and Sustainability*, 4, 100023. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100023>

Xiao, Y., Zan, F., Zhang, W., & Hao, T. (2022). Alleviating nutrient imbalance of low carbon-to-nitrogen ratio food waste in anaerobic digestion by controlling the inoculum-to-substrate ratio. *Bioresource Technology*, 346, 126342. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126342>

Yao, Y., Yu, L., Ghogare, R., Duns Moor, A., Davaritouchaee, M., & Chen, S. (2017). Simultaneous ammonia stripping and anaerobic digestion for efficient thermophilic conversion of dairy manure at high solids concentration. *Energy*, 141, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.09.086>

Yellezuome, D., Zhu, X., Wang, Z., & Liu, R. (2022). Mitigation of ammonia inhibition in anaerobic digestion of nitrogen-rich substrates for biogas production by ammonia stripping: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 157, 112043. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.112043>

CAPITOLO 5. RISULTATI E DISCUSSIONE

5.1 Interconnessione fra i capitoli

Il Capitolo 1 costruisce la base problematica: perché l'azoto è il "bottleneck" ambientale della zootecnia moderna, quali sono i limiti di assorbimento agronomico, come si distribuiscono i superamenti e quali leve normative e tecniche sono oggi disponibili. Ne esce un requisito chiaro: servono sistemi che spostino l'azoto in forme e vettori gestibili ed esportabili (solidi separati, sali ammoniacali, struvite), minimizzando le perdite in aria e acqua (Sigurnjak et al., 2019; Reuland et al., 2021; Rietra et al., 2024).

Il Capitolo 2 fornisce la base tecnologica: dimostra che i reattori a biofilm permettono di trattare FW e reflui ad alta forza in modo più compatto e robusto dei CSTR, e che la DF in biofilm abilita rese di Bio-H₂ competitive, soprattutto in configurazione a due stadi con metanizzazione successiva. I limiti emersi (intasamenti, controllo del biofilm, selezione microbica, purificazione gas) (Janesch et al., 2021; Werkneh, 2022; Farghali et al., 2022) orientano le soluzioni progettuali investigate sperimentalmente nella parte centrale della tesi.

Il capitolo dedicato a feccia di vino e Bio-H₂ traduce questa impostazione in prova di concetto: usa un residuo locale come leva per accelerare e stabilizzare la DF, valorizzando un rifiuto a costo negativo e riducendo la dipendenza da inoculi convenzionali. Le condizioni operative (pH debolmente acido, tempi di detenzione, eventuale pretrattamento meccanico del substrato) e i risultati su rese e produttività d'idrogeno mostrano la fattibilità di un primo stadio acidogeno a biofilm scalabile (Venkiteshwaran et al., 2016; Zhao et al., 2022).

Il capitolo conclusivo sul trattamento dell'azoto chiude il cerchio: a valle della DA/DF il digestato e in particolare la frazione liquida richiedono linee dedicate. Qui la tesi mette a confronto schemi biologici e fisico-chimici con criteri di integrazione (strippaggio), recupero di nutrienti (sali d'ammonio, struvite) e compatibilità normativa in ZVN, indicando percorsi di adozione graduale per aziende singole o consorziate (Hagemann et al., 2016; Bonanomi et al., 2019).

I quattro capitoli precedenti hanno delineato un quadro coerente in cui i flussi organici agro-zootecnici e agro-industriali possono essere trattati e valorizzati entro

vincoli ambientali e regolatori stringenti. Dal Capitolo 1 emerge la centralità del contenimento dell'azoto reattivo e del fosforo, con pressioni normative crescenti (ZVN, limiti allo spandimento, requisiti di monitoraggio) e con la necessità di soluzioni che combinino riduzione dei carichi, recupero di nutrienti e produzione di energia. Il Capitolo 2 dimostra che i reattori a biofilm (AF, UASB, AnMBBR, AnMBR, FBR) offrono un vantaggio intrinseco di ritenzione biomassa e stabilità a OLR elevati rispetto ai CSTR, risultando particolarmente adatti a DF/DA di scarti alimentari e percolati, con rese e produttività competitive e maggiore resilienza agli shock. Il Capitolo 3 mostra che la feccia di vino, opportunamente inoculata e acclimatata, è efficace per DF con buone rese di H_2 e selettività verso percorsi acetico/butirrico, se il pH è controllato essendo i metanigeni non presenti; gli effluenti sono ricchi di VFA e quindi idonei come co-substrato metanigeno in una fase a doppio stadio. Il Capitolo 4 mostra modelli di carico e speciazione a valle della DA e supportano scelte impiantistiche per recupero (ammonio come sale ammoniacale, fosforo come struvite) e/o rimozione (nitro-denitro) (Capson-Tojo et al., 2020; Jamaludin et al., 2018; Reuland et al., 2021).

5.2 Discussione critica

La tesi di dottorato affronta la valorizzazione degli scarti organici in chiave energetica e nutrizionale, con un focus su reattori anaerobici a biofilm e gestione/recupero dell'azoto. Capitolo 1 sintetizza il quadro ambientale e regolatorio su azoto e fosforo (UE–Italia–Campania), le principali fonti emissive in zootecnia e le tecnologie di trattamento (separazione solido liquido, nitrificazione–denitrificazione, strippaggio, digestione anaerobica), evidenziando le sinergie energetiche con la digestione anaerobica (European Commission, 2019; 2022; Scarlat et al., 2018; Sarker et al., 2018). Capitolo 2 presenta una rassegna critica sui reattori a biofilm (AF, UASB, AnMBBR, AnMBR, FBR) per la conversione di food waste (FW) a Bio- CH_4 e Bio- H_2 , mettendo a confronto design, materiali di supporto e parametri operativi (OLR, HRT/SRT, pH, T). Dalla letteratura emergono rimozioni tipiche di 70–90 % di COD e solidi volatili; in dark fermentation il pH 5,5–6,5 è ottimale per l' H_2 , mentre in AD pH 6,8–7,5; HRT 2–10 giorni e OLR 5–20 kg COD $m^{-3} d^{-1}$ risultano gamme operative ricorrenti. Le rese riportate variano ~18–86 mL $H_2 g^{-1} COD$ e 0,31–280 mL $CH_4 g^{-1} COD$, con benefici strutturali dei biofilm (ritenzione biomassa, resistenza agli shock) e criticità di scala (intasamenti, canali preferenziali) (Hu et al., 2018; Andr et al., 2021; Subbarao et al., 2023; Ganjifar et al., 2024). Capitolo 3 esplora l'uso della feccia di

vino come nuova fonte microbica per la produzione di bioidrogeno da residui vegetali in dark fermentation. Prove batch (37 °C, 60 d) su pomodoro verde (WLGT), peperone (WLBP), fagiolino (WLGB), zucchina (WLZ), piselli (WLP), melanzana (WLE) hanno fornito rese cumulate pari a 350, 344, 319, 314, 302, 170, 149 mL H₂ g⁻¹ VS (WLZ, WLE, WLRT, WLGT, WLP, WLGB, WLBP), con VFA totali 2059–4995 mg HAc L⁻¹. Il digestato DF è stato poi sottoposto (giorni 61–147) a digestione anaerobica mesofila: la bioconversione dei VFA in metano è confermata da $r = 0,778$ (Pearson), VFA finali ≤ 131 mg HAc L⁻¹ e dalla presenza di geni funzionali (es. K00925). A livello tassonomico, *Clostridium_sensu_stricto_12* e *Caproiciproducens* raggiungono 44–78 % dopo DF; nel secondo stadio prevalgono archea *Methanosaeta* (45–98 %). Una stima energetica preliminare discute implicazioni e limiti del bioprocesso a due stadi. Nel quarto capitolo, il monitoraggio di un SBR reale ha mostrato pH basico in nitrificazione (8,57–9,00), ~7,8 in denitrificazione e criticità tipiche da sovraccarico ammoniacale (accumulo di NO₂⁻ e perdita di NO₃⁻), con TN in uscita fino a ~3000 mg/L. Le prove in SBR di laboratorio hanno stabilizzato il processo in ~30 giorni: nella fase di avvio su digestato diluito si è osservata conversione biologica dell'ammonio (N–NH₄⁺ da 28,79 a 0,08 mg/L, ~99%). A regime, con digestato non diluito (~1:1), HRT ~10 giorni, DO ~6,5 mg/L in nitrificazione e anossia in denitrificazione (~0,05 mg/L), l'uscita di TN si è attestata a ~390–400 mg/L, pari a una riduzione ~50% rispetto all'ingresso. Test di stripping hanno mostrato rimozioni apprezzabili solo a pH $\geq 9,95$ –10,25, confermando la prevalenza del meccanismo biologico alle condizioni operative (Capson-Tojo et al., 2020; Yellezuome et al., 2022; Jamaludin et al., 2018).. Il recupero del fosforo tramite precipitazione di struvite è risultato fattibile (riduzione fino a ~62% in 24 h a pH elevato), ma richiede controllo del pH (~9,5–10,5) e rapida separazione solido-liquido. Questi esiti sostengono uno schema integrato C–N–P accoppiato a DA/dark fermentation e CHP per contesti aziendali/consortili (Harirchi et al., 2022; Kurade & Jeon, 2018; Zhao et al., 2022).

Nel complesso, la tesi consegna un impianto concettuale e operativo chiaro: un sistema a biofilm, modulare e integrato, in cui DF e AD sono orchestrate per massimizzare l'estrazione di valore energetico dagli scarti, mentre la linea nutrienti recupera azoto e fosforo in forme utili all'agricoltura. La coerenza con il quadro europeo su decarbonizzazione, sicurezza alimentare ed economia circolare, unita alla scalabilità a livello aziendale/consortile, rende questa soluzione una via praticabile per regioni a forte vocazione agro-alimentare come la Campania.

Rimangono tuttavia dei limiti che richiedono attenzione nello scale-up: la variabilità del feedstock, l'eterogeneità e lo spessore del biofilm connessi a rischi di

intasamento, la necessità di monitoraggio in tempo reale di VFA, NH_3 e composizione dei gas, nonché la scelta di carrier a costo contenuto ma stabili. Queste criticità non inficiano la validità del paradigma, ma ne definiscono le condizioni di successo: progettazione idraulica accurata, materiali di supporto ingegnerizzati, controllo avanzato basato su modelli e un disegno impiantistico capace di integrare la catena carbonio-azoto-fosforo.

La prospettiva che si apre è quindi quella di una piattaforma replicabile, capace di chiudere i cicli biogeochimici locali generando benefici ambientali misurabili (energia netta positiva, riduzione di carichi in ambiente, sostituzione di concimi fossili) e ritorni economici sostenibili. Il passaggio dalla prova di concetto alla pratica — attraverso dimostrazioni pilota in continuo, controllo avanzato e integrazione di filiere di recupero — rappresenta il naturale sviluppo del lavoro svolto e la chiave per trasformare una promettente tecnologia in infrastruttura reale di transizione ecologica.

5.3 Limiti del lavoro

Tre sono i nodi principali da presidiare nell'up-scaling:

- Scalabilità dei biofilm: formazione non uniforme, intasamenti/stratificazioni e perdita di carrier; servono carriers con alta area specifica, idrodinamica controllata e strategie di shear management per mantenere lo spessore ottimale del biofilm e il trasferimento di massa.
- Controllo del regime bifase: evitare “metanazione precoce” in DF e acidificazioni in DA richiede controllo predittivo di pH, VFA, alcalinità, H_2 parziale e feed-forward sull'OLR; è critico l'avviamento e la gestione transitoria.
- Economia del recupero N/P: lo stripping è energy-intensive senza recupero termico; la struvite richiede finestre di pH e stechiometrie (Mg:N:P) talvolta non naturali; è necessaria un'integrazione fine dei sidestream e una pianificazione della domanda agronomica locale per assicurare sbocco ai prodotti.

Ulteriori incertezze riguardano la variabilità del substrato (stagionalità), la qualità costante dei fertilizzanti recuperati e la logistica di distribuzione in aree ZVN.

Materiali di supporto a basso costo e funzionalizzati: carrier riciclati/spugnosi con superfici cationiche per accelerare l'adesione, gradienti di porosità per mitigare intasamenti, biochar ingegnerizzato come conduttore microbico.

5.4 Sviluppi futuri

I risultati ottenuti indicano una traiettoria di ricerca chiara: portare le configurazioni a biofilm dalla scala di laboratorio a quella pilota e pre-industriale, mantenendo il controllo sui fenomeni che in piccolo sono stati determinanti per la resa (idrodinamica, trasferimento di massa, ritenzione di biomassa e selettività microbica). Il primo passo riguarda dunque lo scale-up controllato: occorre validare, in reattori dell'ordine di centinaia di litri, la robustezza dei materiali di supporto e delle condizioni operative identificate, verificandone l'invecchiamento, la resistenza all'abrasione, la propensione all'intasamento e la facilità di pulizia in place. In parallelo, è strategico aprire alla sperimentazione di carrier a basso costo e origine circolare (biochar ingegnerizzato, plastiche riciclate, supporti derivati da scarti agro-industriali), modulando carica superficiale e geometria per guidare l'adesione e la maturazione del biofilm.

Un secondo asse di sviluppo è l'integrazione di processo. La sequenza a doppio stadio va raffinata introducendo anelli di controllo che rendano sinergiche le due fasi: lo stripping laterale di ammoniaca, dimensionato sul carico istantaneo di azoto, non solo come misura anti-inibizione ma come unità di recupero (solfato/ammonio, struvite), alimentata termicamente dal CHP dell'impianto. In parallelo, la cattura della CO₂ di biogas e la sua conversione tramite metanazione biologica alimentata dall'H₂ della DF offrono una via per massimizzare il tenore del metano e l'efficienza energetica complessiva, chiudendo il ciclo del carbonio in modo virtuoso. Su questa piattaforma integrata diventa naturale collocare anche operazioni di “polishing” dei gas (PSA o membrane per H₂, desolforazione dolce) calibrate sulle specifiche di uso finale (celle a combustibile, upgrading a biometano).

Sul piano microbiologico, le prospettive più promettenti riguardano il governo “fine” dell'ecosistema. La selezione mirata dell'inoculo—attraverso pretrattamenti termici/acidi e bio-arricchimenti—dovrà essere accompagnata da una caratterizzazione periodica (16S rRNA/metagenomica) e correlata a indicatori di processo (spettro dei VFA, H₂/CH₄, TAN e NH₃ libera) per legare dinamica di comunità e prestazioni. La progettazione di pressioni selettive (pH, HRT/SRT, regime idraulico, salinità, impulsi di substrato) potrà aumentare la resa di H₂ contenendo i metanogeni idrogenotrofi e indirizzare il profilo dei VFA verso specie a maggiore valore (acetato/butirrato) ove si voglia abilitare co-valorizzazioni chimiche.

Questa maggiore complessità richiede sistemi di monitoraggio e controllo avanzati. Un'estensione del modello ADM1 alle cinetiche di DF con biofilm e al trasporto intraparticellare fornirà il “gemello digitale” per la previsione di stati non misurati (soft-sensing di VFA e NH₃ libera). Su tale base, strategie di controllo predittivo

potranno regolare OLR, ricircoli, alcalinità e stripping, con algoritmi di rilevazione precoce di derive (fouling, acidificazione, wash-out) addestrati su dati on-line (portate e composizione gas, pH/redox, conducibilità, torbidità, pressione su membrane). L'obiettivo è stabilizzare l'operazione in condizioni reali, riducendo interventi correttivi e consumo di reagenti.

A valle del reattore, restano aperte ampie opportunità di valorizzazione. Per l' H_2 , occorrerà comparare tecnicamente ed economicamente PSA e membrane (anche in configurazioni modulari) alla scala impiantistica considerata, includendo temi di sicurezza, compressione e buffering. Per i VFA, opzioni come elettrodialisi/membrane a contatto o stripping reattivo potranno essere testate su effluenti reali per verificarne selettività ed energia specifica. Sul fronte nutrienti, la combinazione tra stripping, precipitazione di struvite dovrà essere tarata su suoli e colture target, con prove agronomiche in campo che misurino disponibilità dell'azoto, lisciviazione e bilanci N e P.

Tutte queste linee vanno sostenute da una valutazione integrata di sostenibilità. Accanto alla TEA (techno-economic assessment), un'LCA (life-cycle assessment) "conseguenziale" quantificherà energia netta, impronta climatica evitata rispetto agli scenari di riferimento (gestione tradizionale dei reflui, mancata valorizzazione degli scarti), effetti su eutrofizzazione e acidificazione, e impatti locali (odorigeni, microinquinanti). La cornice regolatoria (ZVN, autorizzazioni per upgrading e immissione in rete) dovrà essere letta in chiave progettuale per garantire conformità e bancabilità; scenari aziendali e consortili in Campania e nel Mezzogiorno offriranno casi d'uso realistici per definire taglie, logistica dei conferimenti e modelli contrattuali.

Infine, il modello di disseminazione tecnologica non potrà che essere modulare. Skid pre-ingegnerizzati per DF a biofilm e sezioni di recupero N/P "plug-and-play", integrabili con digestori esistenti, riducono i rischi di adozione e favoriscono economie di apprendimento. Una piattaforma di supporto decisionale—che combini previsione di resa in funzione del mix di feedstock, vincoli energetici e limiti normativi—aiuterà operatori agricoli e agro-industriali a scegliere la configurazione ottimale e a programmare gli investimenti.

5.5 Conclusioni generali

Il lavoro ha perseguito un obiettivo duplice: da un lato dimostrare che i reattori a biofilm rappresentano una piattaforma tecnicamente solida per la digestione anaerobica e la dark fermentation di scarti alimentari; dall'altro integrare la produzione

di bioidrogeno e biometano con il recupero dell'azoto e del fosforo in un quadro coerente con gli indirizzi europei su clima, energia circolare e uso sostenibile dei nutrienti. Il filo conduttore è la trasformazione dei rifiuti agro-alimentari da passività ambientale a giacimento di energia e fertilità riciclata, con ricadute concrete per i contesti agro-zootecnici e agro-industriali regionali.

Sul piano tecnologico, la rassegna e le evidenze sperimentali confermano il vantaggio intrinseco dei reattori a biofilm rispetto ai CSTR nel trattenere biomassa attiva, sostenere carichi organici più elevati e smorzare gli shock di processo. Configurazioni come UASB, AnMBBR e AnMBR hanno mostrato rimozioni di COD elevate e prestazioni stabili su matrici complesse, mentre in DF i biofilm consentono tassi volumetrici e rese di H_2 sensibilmente superiori grazie al basso dilavamento e alla cooperazione metabolica all'interno della matrice. Tali benefici si manifestano in modo più marcato nell'intervallo mesofilo e a pH controllato, a riprova dell'importanza di OLR, HRT e alcalinità come variabili di progetto.

L'integrazione di DF e AD emerge come architettura ottimale per valorizzare simultaneamente la frazione carboniosa in H_2 e CH_4 , stabilizzando il processo e ampliando il ventaglio di opzioni di utilizzo finale dei gas. La gestione selettiva della comunità microbica, tramite pretrattamenti dell'inoculo e pressioni operative (pH, HRT/SRT, regime idraulico), risulta decisiva per limitare i metanigeni idrogenotrofi e indirizzare lo spettro dei VFA. In quest'ottica, la purificazione a valle (membrane/PSA per H_2 , upgrading del CH_4) e l'eventuale accoppiamento con metanazione biologica della CO_2 completano una filiera gas-centrica efficiente e modulare.

Il caso di studio sulla feccia di vino ha offerto una dimostrazione di fattibilità particolarmente interessante: impiegata come inoculo/semi per la DF a biofilm, ha consentito l'avvio e il mantenimento di una comunità produttiva di H_2 in un intervallo di pH favorevole, con profilo di VFA coerente con le cinetiche osservate in letteratura e una buona selettività verso i percorsi acetici/butirrico sotto condizioni controllate. L'analisi di sensibilità a OLR e HRT ha evidenziato il consueto compromesso tra produttività istantanea e stabilità, fornendo indicazioni pratiche per il dimensionamento in continuo. La valutazione tecnico-economica preliminare suggerisce che, in presenza di tariffe energetiche adeguate, conferimenti stabili e recupero di nutrienti, la soluzione possa risultare competitiva già alla scala consortile.

La linea nutrienti costituisce un tassello essenziale del quadro complessivo. Le difficoltà del processo di nitrificazione con elevati carichi di azoto ha guidato il posizionamento di unità di stripping e precipitazione per massimizzare il recupero dell'ammonio (sali ammoniacali/struvite) e ridurre l'inibizione da NH_3 libera.

L'integrazione termica con il CHP potrebbe attenuare l'onere energetico dello stripping, mentre la produzione di fertilizzanti biologici allinea l'impianto ai criteri di sostituzione dei concimi minerali, nel rispetto dei vincoli di ZVN e degli schemi emergenti. In termini sistemici, l'accoppiata energia-nutrienti migliora i bilanci N e P aziendali, riduce le perdite reattive in ambiente e incrementa la bancabilità del progetto.

5.6 Bibliografia

- Andr, P., Teleken, J.G., Meier, T.R., & Alves, H.J. (2021). Two-stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review. *J. Environ. Manag.*, 281, 111854.
- Bonanomi, G., et al. (2019). Predicting nitrogen mineralization... *Plant and Soil*, 441, 129–146.
- Capson-Tojo, G., et al. (2020). Free ammonia inhibition in AD. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 117, 109487.
- Cayetano, R.D.A., et al. (2020). AnDMBR at varying HRT. *Int. J. Energy Res.*, 44, 12485–12495.
- Chen, G., Wu, W., Xu, J., & Wang, Z. (2021). AnDMBR: SRT impact. *Bioresour. Technol.*, 329, 124864.
- European Commission. (2019). The European Green Deal. COM(2019) 640.
- European Commission. (2022). REPowerEU Plan. COM(2022) 230.
- European Union. (2020). Technical Proposals... RENURE. EUR 30363 EN.
- Farghali, M., Osman, A.I., Umetsu, K., & Rooney, D.W. (2022). Integrating biogas into H₂ economy. *Environ. Chem. Lett.*, 20, 2853–2927.
- Gállego-Bravo, A.K., et al. (2023). Bioaugmentation with hydrogenotrophic methanogens. *Biotechnol. Lett.*, 45, 1339–1353.
- Harirchi, S., et al. (2022). Microbiological insights into DF/AD. *Bioengineered*, 13, 6521–6557.
- Hagemann, N., Harter, J., & Behrens, S. (2016). Biochar & N cycling. In *Biochar Application* (pp. 3–198).
- Hu, Y., et al. (2018). Anaerobic dynamic membrane bioreactors: Review. *Bioresour. Technol.*, 247, 1107–1118.
- Hupfau, S., et al. (2018). Temperature shapes AD microbiota; max ~45 °C. *Bioresour. Technol.*, 269, 309–318.

- Jamaludin, Z., et al. (2018). Scrubbing agents for ammonia recovery. *Bioresour. Technol.*, 270, 596–602.
- Janesch, E., et al. (2021). Phase separation in AD. *Front. Chem. Eng.*, 3, 711971.
- Kiessé, T.S., et al. (2019). Dairy management & enteric CH₄. *Agric. Syst.*, 173, 449–457.
- Marcobertardino, G.D., et al. (2018). Biogas membrane reformer. *Chem. Eng. Process.*, 129, 131–141.
- Martín, M., Taifouris, M., & Galán, G. (2023). Lignocellulosic biorefineries. *Bioresour. Technol.*, 385, 129397.
- Our World in Data. (2021). Methane emissions by sector (World).
- Park, J., et al. (2023). AnDMBR + alkaline-thermal; TEA. *Chem. Eng. J.*, 474, 145735.
- Park, J., et al. (2025). Two-stage AD + dynamic membrane. *Bioresour. Technol.*, 415, 131661.
- Reuland, G., et al. (2021). RENURE & digestate fertiliser potential. *Agronomy*, 11, 1374.
- Rietra, R., van Dijk, K., & Schoumans, O. (2024). Ammonium sulfate from scrubbing: Environmental effects. *Appl. Sci.*, 14, 4998.
- Saha, M.K., et al. (2022). CH₄ mitigation in rice systems. *J. Environ. Manag.*, 310, 114755.
- Scarlat, N., et al. (2018). Biogas from manure in Europe. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 94, 915–930.
- Sigurnjak, I., et al. (2019). Bio-based mineral fertilisers via stripping–scrubbing. *Waste Manag.*, 89, 265–274.
- Statista. (2025). Globally-Averaged Monthly Mean Atmospheric CH₄.
- Subbarao, P.M.V., et al. (2023). AD for carbon neutrality. *Environ. Res.*, 234, 116286.
- USEPA. (n.d.). Understanding Global Warming Potentials.
- Venkiteshwaran, K., et al. (2016). Community–function links in AD. *Microbiol. Insights*, 8, 37–44.
- Werkneh, A.A. (2022). Biogas impurities & removal. *Heliyon*, 8, e10929.
- Xu, R., et al. (2018). Nutrient balance & microbiome in co-digestion. *Bioresour. Technol.*, 247, 1119–1127.
- Yellezuome, D., et al. (2022). Ammonia stripping to mitigate inhibition. *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 157, 112043.

Zhao, X., et al. (2022). Full-scale two-phase AD of WAS. *Sci. Total Environ.*, 814, 152525.

